

2012

Desenvolvimento de um *blend* de café com potencial impacte positivo para
a saúde pública

Vânia Ribeiro





Vânia Sofia Santos Ribeiro

Licenciada em Biociências – Ciências da Nutrição

Desenvolvimento de um *blend* de café com potencial impacte positivo para a saúde pública

Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em
Qualidade Alimentar

Orientador: Doutor Fernando José Cebola Lidon, Professor associado,
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Co-Orientador: Doutor António Eduardo Baptista Leitão, Investigador auxiliar,
Instituto de Investigação Científica Tropical

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria Paula Baptista da Costa Antunes

Arguentes: Prof. Doutor Augusto Manuel Nogueira Gomes Correia

Prof. Doutora Maria do Rosário Beja Figueiredo Gonzaga
Bronze

Vogais: Prof. Doutora Benilde Simões Mendes

Prof. Doutor António Sebastião Rodrigues

Prof. Doutor Fernando José Cebola Lidon

Doutor António Eduardo Baptista Leitão



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Abril de 2012



Vânia Sofia Santos Ribeiro

Licenciada em Biociências – Ciências da Nutrição

Desenvolvimento de um *blend* de café com potencial impacte positivo para a saúde pública

Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em
Qualidade Alimentar

Orientador: Doutor Fernando José Cebola Lidon, Professor associado,
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Co-Orientador: Doutor António Eduardo Baptista Leitão, Investigador auxiliar,
Instituto de Investigação Científica Tropical

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria Paula Baptista da Costa Antunes

Arguentes: Prof. Doutor Augusto Manuel Nogueira Gomes Correia

Prof. Doutora Maria do Rosário Beja Figueiredo Gonzaga
Bronze

Vogais: Prof. Doutora Benilde Simões Mendes

Prof. Doutor António Sebastião Rodrigues

Prof. Doutor Fernando José Cebola Lidon

Doutor António Eduardo Baptista Leitão



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Abril de 2012

Copyright © - Todos os direitos reservados. Vânia Sofia Santos Ribeiro. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.

“Desenvolvimento de um *blend* de café com potencial impacte positivo para a saúde pública”

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

A presente dissertação foi escrita ao abrigo do Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa (1990).

Agradecimentos

A presente dissertação foi realizada com base no trabalho desenvolvido numa parceria entre a Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, o Centro de Ecofisiologia, Bioquímica e Biotecnologia Vegetal do Instituto de Investigação Científica Tropical e a empresa Novadelta, às quais quero manifestar os meus sinceros agradecimentos.

À Professora Doutora Benilde Mendes, Coordenadora do Programa Doutoral em Qualidade Alimentar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa pela admissão e atenção prestada ao longo deste período.

Aos meus orientadores professor Doutor Fernando Lidon e Doutor Eduardo Leitão, pelos meios proporcionados para a realização de todos os trabalhos, pelas preciosas sugestões de melhoria, experiências e motivação partilhadas, preponderantes na realização da presente dissertação.

Ao Sr. Comendador Rui Nabeiro, pela sua generosidade, pronta disponibilização de recursos materiais e humanos, apoio prestado em Campo Maior e pela disponibilidade para fazer parte da Comissão de Acompanhamento. Ao Engenheiro Marco Miranda e à Engenheira Maria Miguel pelo empenho e atenção dados às solicitações que foram surgindo, a simpatia inigualável, extrema dedicação e amizade. Ao Sr. Pedro Romão, Engenheiro Henrique Carrilho e Sr. Adelino pelo incansável acompanhamento nas tarefas envolventes à formulação do *blend*. Ao painel de provadores da empresa Novadelta pela colaboração na análise sensorial dos cafés bem como todos os colaboradores da fábrica que amavelmente aceitaram participar nas provas hedónicas.

Aos investigadores, técnicos e administrativos do ECO-BIO/IICT pela sua participação nas provas hedónicas, à Sra. Elisabete Lopes pela sua colaboração ao longo da execução das determinações analíticas, à Sra. Isabel Palos, Doutor Luís Goulão, Doutora Ana Fortunato e Doutor José Ramalho pela realização dos testes de *flavour* às diversas formulações. À Doutora Leonor Guimarães e Doutora Andreia Loureiro do CIFIC/IICT pelo empréstimo de material de laboratório e pela amizade. Às investigadoras brasileiras Rejane Freitas da UFV e Juliana Barbosa da UFLA pelo carinho, fé, amizade e alegria partilhadas.

À Doutora Paula Scotti e Sra. Isabel Pais do INRB/INIA pela paciência e simpatia no ensinamento das técnicas e auxílio preponderante no laboratório aquando da determinação dos ácidos gordos.

À Doutora Graça Barreiros e Engenheiro Mário da Estação Agronómica Nacional por terem disponibilizado o colorímetro e pelo auxílio nas determinações.

À Doutora Natalina Bicho por todo apoio, simpatia e motivação.

Ao Sr. Chaveiro pelo auxílio na Microscopia de *Scanning* e à Dona Margarida da cantina pela extração dos cafés.

Às professoras Ana Paula Taboada da Costa Santos Carvalho e Ana Gomes da ESB-UCP por me terem aberto as portas ao mundo da investigação, pela simpatia e conhecimentos transmitidos.

Aos meus pais Maria de Fátima e José Ribeiro, por todo o amor, carinho, transmissão de valores e lealdade, pelas críticas construtivas que me foram fazendo ao longo da vida, permitindo que caminhasse em solo firme.

À minha irmã Diana, futura *marketeer* que fez com que estudasse *Marketing*, principalmente comportamento do consumidor e estudos de mercado, por fazer parte da minha vida e partilhar comigo todas as alegrias. À minha avó Ermelinda, pelo carinho, presença constante, partilha das refeições, transmissão de conhecimentos e infindáveis histórias de vida.

Aos meus amigos Paulo Dias, Cláudia Gonçalves e Pedro Ferreira por compreenderem a minha ausência e constante indisponibilidade nos últimos tempos, pela amizade e carinho com que sempre me trataram e pelas visitas que me fizeram.

Resumo

Os componentes bioativos do café (nomeadamente cafeína, trigonelina, niacina, polifenóis) assim como os respetivos efeitos benéficos para a saúde identificam este produto como um potencial alimento funcional. De facto, inúmeros estudos epidemiológicos associam o consumo de café à prevenção e / ou tratamento de diversas patologias, nomeadamente diabetes *mellitus*, vários tipos de cancro, doenças de *Alzheimer* e de *Parkinson*. Contudo, a qualidade do café, determinante para os seus efeitos benéficos, depende de inúmeros fatores, destacando-se as práticas agrícolas, condicionada pelas espécies e origens, as operações de colheita, pós-colheita, seleção dos grãos, armazenamento e torras diferenciadas.

A presente dissertação teve como principal objetivo a formulação e caracterização físico-química de um *blend* de café inovador, sustentável, e com potencial impacte para a saúde pública.

O estudo foi dividido em seis partes, consistindo a primeira na investigação das formulações para obtenção do *blend* final através de análises de *flavour* com diferentes conjugações e formulações, a segunda na análise sensorial e provas hedónicas, a terceira nas análises da atividade antioxidante dos cafés existentes no mercado português, a quarta na análise de controlo de qualidade aos cinco cafés verdes e torrados, a quinta na análise físico-química e tecnológica efetuada às matérias-primas (café torrado, café dourado, pele de prata e cacau) que constituem o *blend* final e controlos e a sexta na análise físico-química das bebidas.

Do trabalho de investigação desenvolvido resultou um *blend* final com um diversificado teor de compostos bioativos, com um *flavour* apreciável, aprovado por consumidores e por um painel de provadores. A formulação deste produto decorre duma história de produção inteligente, que se iniciou com a maximização dos recursos disponibilizados, sendo sustentável, devido à valorização do subproduto pele de prata e processamento minimizado do café verde e inovador pela adição de cacau e pela sua extração otimizada.

Termos chave: café expresso, inovação, compostos bioativos, cacau.

Abstract

The bioactive components of coffee, namely caffeine, trigonelline, niacin, polyphenols, as well as the respective beneficial effects on health, has been considered to be characteristics that points it as a potential functional food product. Indeed, numerous epidemiological studies associated with the consumption coffee, has linked this product to the prevention and / or treatment of several pathologies, including diabetes *mellitus*, many types of cancer, Alzheimer's and Parkinson's disease. However, the quality of the coffee, which is crucial for its beneficial effects, depends on numerous factors, especially agricultural practices, conditioned by the species and origin, harvest operations, post-harvest grain selection, storage and roasting differentiation.

This work aims the formulation and physicochemical characterization of an innovative blend of coffee, sustainable, and with potential impact on public health.

The study was divided in six parts: the first, consisting in the investigation of formulations, to obtain the final blend, combining different flavours and mixtures; the second, entailing sensory analysis and hedonic evidence; the third, focused in the antioxidant activity of available coffees in the Portuguese market; the fourth, in the evaluation of the quality control of five green and roasted coffees; the fifth, in the determination of physicochemical and technological characteristics of raw materials (roasted coffee, gold coffee, silver skin and cocoa) that constitute the final blend and controls; the sixth, in the physicochemical analysis of beverages.

The research work resulted in a final blend, with a large content of bioactive compounds and having an appreciable flavour, as pointed by consumers and a panel of tasters. The formulation of this product followed an intelligent producing technology. In this context, the available resources were maximized, sustainability was considered (due to the appreciation of the by-product of silver skin) and the processing of green coffee and cocoa was minimized (by adding innovation and an optimized extraction).

Keywords: espresso coffee, innovation, bioactives compounds, cocoa.

Lista de abreviaturas

3-CQA	ácido 3-cafeoilquínico
3-FQA	ácido 3-feruloilquínico
3,4-diCQA	ácido 3,4-dicafeoilquínico
3,5-diCQA	ácido 3,5-dicafeoilquínico
4-CQA	ácido 4-cafeoilquínico
4-FQA	ácido 4-feruloilquínico
4,5-diCQA	ácido 4,5-dicafeoilquínico
5-CQA	ácido 5-cafeoilquínico
5-FQA	ácido 5-feruloilquínico
ABIC	Associação Brasileira da Indústria do Café
ABV	Café verde comercial da espécie <i>Coffea arabica</i> com origem no Brasil
ABV+v	Café verde comercial da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem no Brasil e cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v após a torra.
ABV-v	Café verde comercial da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem no Brasil e cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v após a torra.
ABT	Café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> com origem no Brasil
ABT+v	Café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem no Brasil e cujo aumento do volume após a torra foi superior ao ABT-v
ABT-v	Café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem no Brasil e cujo aumento do volume após a torra foi inferior à amostra ABV+v.
ABTS	<i>2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)</i>
AHV	Café verde comercial da espécie <i>Coffea arabica</i> com origem nas Honduras
AHT	Café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> com origem nas Honduras
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
AS	Café do mercado rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
ATV	Café verde comercial da espécie <i>Coffea arabica</i> com origem em Timor
ATT	Café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> com origem em Timor
AUC	<i>Area Under Curve</i> (área sobre a curva)
BF	<i>Blend</i> final de café com características potencialmente funcionais
BFBriel	Bebida de café expresso correspondente ao <i>blend</i> final extraída pela máquina <i>Briel</i>
BFLaCimbali	Bebida de café expresso correspondente ao <i>blend</i> final extraída pela máquina <i>La Cimbali</i>
BFQOOL	Bebida de café expresso correspondente ao <i>blend</i> final extraída pela máquina <i>DQOOL</i>
BPA	Boas práticas agrícolas
BPF	Boas práticas de fabrico
CD	Café dourado (café verde minimamente processado)
CEN	<i>Comité Européen de Normalisation</i>
CGA	Ácido clorogénico
CGL	Latona do ácido clorogénico
CIE	Commission International de l'Eclairage (<i>International Commission on Illumination</i>)
CIELab	Espaço colorimétrico CIE 1976

CQA	Ácidos cafeoilquínicos
CTBF	Café torrado utilizado na formulação do <i>blend</i> final BF, constituído por 70% café robusta e 30% café arábica
DBI	<i>Double bond index</i>
DCH	Café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso <i>Briel</i> e <i>La Cimbali</i>
DCHBriel	Bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina <i>Briel</i>
DCHLaCimbali	Bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina <i>La Cimbali</i>
DCV	Doenças cardiovasculares
DDA	Dose diária admissível
DDR	Dose diária recomendada
diCQA	Ácidos dicafeoilquínicos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	<i>2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil</i>
DRC	Doença renal crónica
ECO-BIO	Centro de Ecofisiologia, Bioquímica e Biotecnologia Vegetal
ECV	Equivalentes em café verde
EFSA	European Food Safety Authority (Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos)
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay</i>
EMAG	Ésteres metílicos de ácidos gordos
EXCV	Extrato de café verde
FAO	<i>Food and Agricultural Organization</i>
FAOSTAT	<i>FAO statistical databases</i>
FOSHU	<i>Foods for Specified Health Use</i>
FQA	Ácidos feruloilquínicos
FUFOSE	<i>Functional Food Science in Europe</i>
GAE	Equivalentes em ácido gálico
GC-MS	Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massa
HACCP	<i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>
HDL	Lipoproteína de alta densidade
ICO	<i>International Coffee Organization</i>
IICT	Instituto de Investigação Científica Tropical
I&D	Investigação e Desenvolvimento
IMC	Índice de Massa Corporal
INE	Instituto Nacional de Estatística
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MDA	Malonaldeído
NV	Café do mercado enriquecido com vitaminas
NG	Café solúvel, com 65 % de café torrado e 35 % de café verde

ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> (Capacidade de remoção do radical oxigénio)
OTA	Ocratoxina A
PASSCLAIM	<i>Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods</i>
PCR	Proteína C reativa
PCC	Ponto crítico de controlo
PME	Pequenas e médias empresas
PPHO	Procedimento padrão de higiene operacional
PVA	Denominação para grãos de café pretos, verdes e ardidos
QAL	Café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina <i>DQOOL</i>
QALQOOL	Bebida de café expresso correspondente ao controlo QAL extraída pela máquina <i>DQOOL</i>
RAV	Café verde comercial da espécie <i>Coffea canephora</i> com origem em Angola
RAT	Café torrado da espécie <i>Coffea canephora</i> com origem em Angola
RCV	Café verde comercial da espécie <i>Coffea canephora</i> com origem nos Camarões
RCT	Café torrado da espécie <i>Coffea canephora</i> com origem nos Camarões
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TFG	Taxa de filtração glomerular
TOTG	Teste oral de tolerância à glucose
tR	Tempo de retenção
TSS	Café do mercado constituído com café torrado e pele de prata, acondicionado sob o formato de pastilha
US Army	Exército dos Estados Unidos da América
VCEAC	Capacidade Antioxidante equivalente em vitamina C

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo	III
Abstract	V
Lista de abreviaturas.....	VII
Índice.....	XI
Índice de figuras	XV
Índice de tabelas.....	XXI
1. Introdução.....	1
1.1. Contextualização	1
1.2. Problema, questões e objetivos de investigação	3
2. Enquadramento Teórico.....	5
2.1. Importância socioeconómica associada à inovação de alimentos funcionais	5
2.1.1. Economia e Inovação – A sua relevância para Portugal no contexto atual	5
2.1.2. Alimentos funcionais – Desenvolvimento, <i>marketing</i> e aceitação do consumidor..	5
2.1.3. Representação económica da produção e consumo de café.....	7
2.2. Ciência do café.....	8
2.2.1. Da sua enigmática descoberta à expansão atual	8
2.2.2. Origem do cafeeiro e do café.....	8
2.2.2.1. Classificação do cafeeiro	9
2.2.3. Tecnologia do café - Sistemas de produção do café verde comercial.....	10
2.2.3.1. Etapas de pré-colheita	10
2.2.3.2. Colheita.....	11
2.2.3.3. Etapas pós-colheita	11
2.2.4. Descrição do processo de industrialização do café	16
2.2.4.1. Torra	16
2.2.4.2. Subproduto da torra - Pele de prata	18
2.2.4.3. Moagem	19
2.2.4.4. Processamento terciário	19
2.2.5. Qualidade do café	21
2.2.5.1. Parâmetros que afetam a qualidade do café verde	21
2.2.5.1.1. Composição química do café verde.....	21
2.2.5.2. Parâmetros que afetam a qualidade do café torrado	23
2.2.5.2.1. Composição química do café torrado	23
2.2.6. Adição de ingredientes na aromatização do café	25
2.2.7. Extração da bebida de café	26
2.2.8. <i>Marketing</i> e aceitação do alimento funcional.....	27
2.2.8.1. Análise sensorial e qualidade dos cafés.....	27
2.2.8.2. Comportamento do consumidor e provas hedónicas.....	28
2.2.9. Sistemas de gestão da qualidade e segurança alimentar.....	28
2.2.9.1. Perigos associados à produção de café.....	29

2.2.9.2.	Ocratoxina A.....	31
2.2.9.3.	Legislação associada para garantir a segurança alimentar	34
2.2.9.4.	Rastreabilidade e garantia da qualidade do café.....	38
2.3.	Alimentos funcionais.....	41
2.3.1.	Componentes do café que o evidenciam como alimento funcional.....	41
2.3.2.	Evidências da pele de prata como ingrediente funcional	43
2.3.3.	Cacau como ingrediente funcional.....	44
2.3.4.	Estudos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	44
2.3.5.	Legislação e alegações de saúde	51
2.3.6.	Potenciais riscos para a saúde	52
3.	Material e Métodos	53
3.1.	Material	53
3.1.1.	Amostras.....	53
3.1.2.	Matérias-Primas	53
3.2.	Métodos	54
3.2.1.	Formulação do <i>blend</i> - Preparação das matérias-primas	54
3.2.1.1.	Processamento - Secagem e torra dos cafés.....	55
3.2.1.2.	Formulação dos <i>blends</i> de café torrado	57
3.2.1.3.	Formulação do café dourado	57
3.2.1.4.	Seleção e moagem da pele de prata.....	58
3.2.1.5.	Preparação de ingredientes a testar – Cacau, cardamomo, gengibre, alecrim e alho.....	58
3.2.1.6.	Incorporação, homogeneização e moagem das matérias-primas na formulação do <i>blend</i> final	58
3.2.1.7.	Embalagem do <i>blend</i> final	60
3.2.1.8.	Extração das bebidas de café expresso.....	60
3.2.1.9.	Análise sensorial e provas hedónicas	62
3.2.1.9.1.	Testes preliminares da associação do café com diferentes ingredientes..	62
3.2.1.9.2.	Provas hedónicas – Teste de consumidor	63
3.2.1.9.3.	Análise descritiva quantitativa	64
3.2.2.	Métodos para análise das amostras de café verde (comercial) – Características físicas e tecnológicas – Controlo de qualidade.....	65
3.2.2.1.	Exame olfativo e visual	65
3.2.2.2.	Classificação com base nos corpos estranhos e defeitos	65
3.2.2.3.	Análise granulométrica	65
3.2.2.4.	Massa de 1000 grãos	66
3.2.2.5.	Determinação da perda de massa por secagem	66
3.2.3.	Café torrado – Características físicas, tecnológicas e químicas	66
3.2.3.1.	Massa volúmica aparente por compactação	66
3.2.3.2.	Aumento de volume.....	66
3.2.3.3.	Perda de massa na torra	67
3.2.3.4.	Moagem das amostras para análise química	67
3.2.3.5.	Teor de humidade	67

3.2.3.6.	Determinação da cor	67
3.2.4.	Matérias-primas, <i>blend</i> final, controlos, cafés do mercado português e bebidas de café expresso – características físico-químicas	69
3.2.4.1.	Determinação da cor	69
3.2.4.2.	Medição do pH	69
3.2.4.3.	Sólidos solúveis.....	70
3.2.4.4.	Caracterização da granulometria das amostras de café torrado moído adquiridas no mercado e do <i>blend</i> final	70
3.2.4.5.	Determinação da perda de massa por secagem	70
3.2.4.6.	Determinação da fibra insolúvel.....	71
3.2.4.7.	Matéria gorda total e ácidos gordos	71
3.2.4.7.1.	Extração da matéria gorda total.....	71
3.2.4.7.2.	Saponificação dos lípidos e metilação dos ácidos gordos.....	72
3.2.4.7.3.	Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos gordos.....	72
3.2.4.8.	Análise do teor de polifenóis totais e capacidade antioxidante	73
3.2.4.8.1.	Preparação dos extratos	73
3.2.4.8.2.	Determinação do teor de polifenóis totais	73
3.2.4.8.3.	Determinação da capacidade antioxidante	73
3.2.4.9.	Peroxidação lipídica.....	75
3.2.4.10.	Determinação dos teores de cafeína, trigonelina e teobromina.....	75
3.2.4.11.	Determinação do teor de ácidos clorogénicos	76
3.2.4.12.	Determinação do teor de glícidos e ácidos orgânicos não voláteis	78
3.2.4.13.	Análise ultrastrutural do <i>blend</i> final	78
3.2.4.14.	Determinação de ocratoxina A no <i>blend</i> final	79
3.2.5.	Análise Estatística	79
4.	Resultados e Discussão.....	81
4.1.	Formulação do <i>blend</i> final.....	81
4.1.1.	Espécies, origens e grau de torra dos cafés	81
4.1.2.	Formulação do café dourado	81
4.1.3.	Ensaio de aprovação de <i>flavours</i>	81
4.1.4.	Ensaio preliminares para testes da moagem <i>versus</i> extração	82
4.1.5.	Caraterização da moagem.....	84
4.1.6.	Extração das bebidas de café expresso.....	85
4.1.7.	Testes na máquina QOOL by Brasilia.....	86
4.2.	Análise sensorial e provas hedónicas	86
4.2.1.	Testes preliminares da associação do café com cacau.....	86
4.2.2.	Provas hedónicas.....	88
4.2.3.	Análise descritiva quantitativa.....	91
4.3.	Café verde comercial.....	93
4.3.1.	Exame olfativo e visual.....	93
4.3.2.	Classificação com base nos corpos estranhos e defeitos.....	93
4.3.3.	Análise granulométrica	96
4.3.4.	Massa de 1000 grãos	100

4.3.5.	Determinação da perda de massa por secagem	101
4.3.6.	Análise multivariada	102
4.4.	Café torrado – Características físicas, tecnológicas e químicas.....	104
4.4.1.	Massa volúmica compactada.....	104
4.4.2.	Aumento de volume com a torra	105
4.4.3.	Perda de massa na torra	106
4.4.4.	Perda de massa por secagem	107
4.4.5.	Determinação da cor	107
4.5.	Matérias-Primas, cafés do mercado português, <i>blend</i> final e controlos.....	108
4.5.1.	Determinação da cor	108
4.5.1.1.	Análise multivariada.....	113
4.5.2.	pH.....	114
4.5.3.	Sólidos solúveis.....	117
4.5.4.	Caracterização da granulometria das amostras de café torrado moído adquiridas no mercado e do <i>blend</i> final.....	120
4.5.5.	Teor de humidade das matérias-primas, <i>blend</i> final BF e controlos.....	121
4.5.6.	Fibra insolúvel	121
4.5.7.	Matéria gorda total e ácidos gordos	124
4.5.8.	Teor de polifenóis totais e capacidade antioxidante	130
4.5.9.	Peroxidação lipídica	135
4.5.10.	Cafeína, trigonelina e teobromina	136
4.5.10.1.	Cafeína	136
4.5.10.2.	Trigonelina	139
4.5.10.3.	Ácido nicotínico e produtos da degradação térmica da trigonelina.....	141
4.5.10.4.	Teobromina	141
4.5.11.	Ácidos Clorogénicos.....	142
4.5.12.	Açúcares totais, redutores e não redutores.....	147
4.5.13.	Ácidos orgânicos não voláteis.....	150
4.5.14.	Ultraestrutura do <i>blend</i> final.....	151
4.5.15.	Ocratoxina A no <i>blend</i> final.....	155
4.6.	Análise multivariada.....	156
4.6.1.	Cafés torrados de 5 origens diferentes	156
4.6.2.	Cafés do mercado	160
4.6.3.	<i>Blend</i> final <i>versus</i> controlos	162
4.6.4.	Bebidas de café expresso.....	166
5.	Conclusão.....	169
6.	Bibliografia	173

Índice de figuras

Figura 2.1 - Reconstrução da dispersão do género <i>Coffea</i> a partir do seu centro de origem no Golfo da Guiné com distribuição real (coloração cinzenta) e supostos refúgios florestais (coloração preta) durante a última grande glaciação (18.000 anos atrás) Regiões biogeográficas na África são descritas por pontos UG (Alta Guiné), LG (Baixa Guiné), C (Congólia), E-CA (África Centro-Oriental) e a EA (África Oriental).....	8
Figura 2.2 - Esquema das diferentes camadas do fruto do cafeeiro.....	10
Figura 2.3 - Fluxograma geral do processamento das cerejas de café por via húmida para obtenção do café pergaminho.....	13
Figura 2.4 - Fluxograma geral do processamento das cerejas de café por via seca para obtenção do “café coco”.	14
Figura 2.5 - Fluxograma geral do benefício do café para obtenção do café comercial.	15
Figura 2.6 - Pele de prata expelida do torrador.	19
Figura 2.7 - <i>Pellets</i> de pele de prata.....	19
Figura 2.8 - Fluxograma geral da industrialização do café para obtenção do café torrado e moído embalado, café solúvel e café descafeinado.....	20
Figura 2.9 - Prevalência da ocratoxina A no mundo	34
Figura 2.10 - Esquema da estrutura de um sistema de rastreabilidade considerando o comércio justo e a certificação do café.....	40
Figura 3.1 - Sacos de café representantes das 5 origens (Brasil, Honduras, Timor, Angola e Camarões).	53
Figura 3.2 - Processamento das amostras.....	55
Figura 3.3 - Torrador <i>Probat</i> com capacidade para 5 kg por torra.	55
Figura 3.4 - Fluxograma do processo de torra realizado na Novadelta.....	56
Figura 3.5 - Processamento do café dourado.	57
Figura 3.6 - Ingredientes testados na formulação do <i>blend</i>	58
Figura 3.7 - Fluxo de procedimentos de moagem e extração das fórmulas preparadas.....	59
Figura 3.8 - Representação das 3 extrações, a envolvida por uma elipse é considerada a “ <i>STANDARD</i> ”.....	59
Figura 3.9 - Sistema de embalagem do <i>blend</i> final em cápsulas e em embalagens de 250 g.	60
Figura 3.10 - Diferentes máquinas utilizadas nos ensaios: <i>Briel</i> - ESPRESSO <i>Briel Riviera ES45</i> ; <i>DQOOL</i> – <i>QOOL By Brasília</i> e <i>La Cimbali</i> – <i>La Cimbali M 27</i> (da esquerda para a direita).....	61
Figura 3.11 - Procedimento de preparação das cápsulas e extração das bebidas.....	61
Figura 3.12 - Ficha utilizada nos ensaios preliminares do <i>blend</i> final.	62
Figura 3.13 - Colorímetro Minolta CR-300 e respetivas amostras a analisar (creme de café, bebida de café e café torrado moído).....	68

- Figura 3.14** - Representação de um modelo de espaço colorimétrico CIELab..... 68
- Figura 3.15** - Amostras preparadas, colocadas no equipamento de microscopia eletrônica de varrimento (*SEM*). 79
- Figura 4.1** - Copos de precipitação com três cafés expressos provenientes das formulações: café com cacau (1); café com pele de prata e cacau (2); café pulverizado com extrato etanólico de cacau (3). 86
- Figura 4.2** - Análise sensorial correspondente aos ensaios preliminares de associação do café com o cacau (amostra 1 - 75 % café arábica, 25 % café robusta e 5 % de cacau; amostra 2 - 50 % café arábica, 50 % café robusta e 5 % de cacau; amostra 3 - 25 % café arábica, 75 % café robusta e 5 % de cacau e amostra 4 - 75 % café arábica e 25 % café robusta). 87
- Figura 4.3** - Gráfico com a caracterização da apreciação global efetuada pelo consumidor em relação à amostra A (lote comercializado com sucesso no mercado português). A percentagem representa os consumidores que atribuíram uma nota de 1-9 correspondente à escala hedónica *US Army* nos testes de consumidor..... 88
- Figura 4.4** - Gráfico com a caracterização da apreciação global efetuada pelo consumidor em relação à amostra B (*blend* 3 constituído por 75 % café robusta e 25 % café arábica). A percentagem representa os consumidores que atribuíram uma nota de 1-9 correspondente à escala hedónica *US Army* nos testes de consumidor..... 88
- Figura 4.5** - Gráfico com a caracterização da apreciação global efetuada pelo consumidor em relação à amostra C (*blend* 3 com 10 % de cacau). A percentagem representa os consumidores que atribuíram uma nota de 1-9 correspondente à escala hedónica *US Army* nos testes de consumidor. 89
- Figura 4.6** - Resultados respeitantes à qualidade global das amostras A21 e Z21 classificados pelos consumidores a partir da escala hedónica *US Army*. 89
- Figura 4.7** - Representação gráfica dos resultados dos testes de consumidores às amostras AS, BF e TSS (n=16). 91
- Figura 4.8** - Representação gráfica da avaliação dos parâmetros sensoriais do *blend* final BF (n=11). 91
- Figura 4.9** - Gráfico de representação da classificação efetuada pelos provadores (n=11) para 15 parâmetros sensoriais: Cor, Asp - aspeto; Od - Odor; Amg - amargo; Doc - doçura; Ads - adstringente; Corp - corpo; Flav - flavour; GR - gosto residual; Pers - persistência; Sal - salinidade; Met – metálico; Ria - riado e Fer - fermentado. 92
- Figura 4.10** - Distribuição dos grãos com defeitos (PVA, brocados e quebrados) nas amostras de café verde comercial (ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões). 96
- Figura 4.11** - Diagrama fracionado correspondente à percentagem de grãos retidos em cada crivo para os diferentes cafés verdes estudados. Abreviaturas: ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões; ABV+v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v; ABV-v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v. 98
- Figura 4.12** - Composição das amostras referentes às percentagens de grão graúdo, médio e miúdo nas diferentes amostras de café verde. Abreviaturas: ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café

verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões; ABV+v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v; ABV-v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v. 99

Figura 4.13 - Homogeneidade comercial (%) dos cafés verdes comerciais. Abreviaturas: ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões; ABV+v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v; ABV-v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v. 100

Figura 4.14 - Projeção das variáveis nos planos definidos pelas três primeiras componentes principais (CP1, CP2 e CP3). As abreviaturas das variáveis têm o seguinte significado: HC - homogeneidade comercial; MS - massa de 1000 grãos; HU - humidade; CR - crivo mais frequente e DF - percentagem total de defeitos. 103

Figura 4.15 - Projeção das variáveis nos planos definidos pelas duas primeiras componentes principais (CP1 e CP2). As abreviaturas das variáveis têm o seguinte significado: HC - homogeneidade comercial; MS - massa de 1000 grãos; HU - humidade; CR - crivo mais frequente e DEF - percentagem total de defeitos. 103

Figura 4.16 - Dendrograma das variáveis MS (massa de 1000 grãos), CR (crivo mais frequente) DF (percentagem de defeitos), HU (humidade) e HC (homogeneidade comercial) com base nas distâncias euclidianas entre elas (à esquerda). Dendrograma das amostras de café verde comercial, AHV - espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões, considerando as variáveis referidas, com base nas distâncias euclidianas entre elas (à direita). 104

Figura 4.17 - Amostras preparadas para determinação da cor (creme, bebida e pó) do *blend* final BF. 112

Figura 4.18 - Projeção das amostras correspondentes às bebidas de café expresso pelas variáveis nos planos definidos pelas 1ª e 2ª componentes principais (CP1 e CP2). Abreviaturas: BFBriel – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *Briel*; DCHBriel – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *Briel*; BFQOOL - bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *DQOOL*; QALQOOL - bebida de café expresso correspondente ao controlo QAL extraída pela máquina *DQOOL*; BFLaCimbali - bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *La Cimbali*; DCHLaCimbali - bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *La Cimbali*. 113

Figura 4.19 - Dendrograma das amostras de bebidas considerando a tonalidade do pó de café torrado moído, da bebida de café expresso (fase líquida) e do creme após extrações em diferentes máquinas. Abreviaturas: BFBriel – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *Briel*; DCHBriel – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *Briel*; BFQOOL - bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *DQOOL*; QALQOOL - bebida de café expresso correspondente ao controlo QAL extraída pela máquina *DQOOL*; BFLaCimbali - bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *La Cimbali*; DCHLaCimbali - bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *La Cimbali*. 114

Figura 4.20 - Percentagem de sólidos solúveis nas matérias-primas que constituem o BF. Abreviaturas: CD – café dourado; CTBF – café torrado utilizado na formulação do *blend* final (BF) constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica e PP – pele de prata. 118

- Figura 4.21** - Teor de sólidos solúveis (nas bebidas de café expresso correspondentes ao *blend* final BF e respectivos controlos (QAL e DCH) após extração nas máquinas *Briel* e *DQOOL*. As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras..... 119
- Figura 4.22** - Teor de fibra dietética insolúvel determinado nas bebidas de café expresso correspondentes ao *blend* final BF (BFBriel) e controlo DCH (DCHBriel). Os valores são expressos em gramas de fibra dietética insolúvel (FDI)/ 100mL de bebida de café expresso (n=3). A letra (a) indica ausência de diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café. 123
- Figura 4.23** - Cromatograma dos ácidos gordos que integram o *blend* final BF..... 126
- Figura 4.24** - Teor de polifenóis totais determinados pelo método de *Folin Ciocalteu* expressos em mg GAE/g, capacidade antioxidante expressa em mg VCEAC/g determinada pelos métodos ABTS e DPPH. Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras e ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor; GAE - equivalentes de ácido gálico; VCEAC - capacidade antioxidante equivalente em vitamina C..... 130
- Figura 4.25** - Teor de polifenóis totais determinados pelo método de *Folin Ciocalteu* expressos em mg GAE/g, a capacidade antioxidante expressa em mg VCEAC/g determinada pelos métodos ABTS e DPPH. As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. Abreviaturas: BF – *blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - café controlo, torrado e moído, para extração nas máquinas de café *Briel* (máquina doméstica fabricada em Portugal) e *La Cimbali* (máquina profissional da restauração fabricada em Itália); QAL - cápsula controlo de café torrado e torrefacto, para extração em máquina *DQOOL* (máquina doméstica de cápsulas fabricada na China para a empresa Novadelta); AS - café rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina; TSS - café com pele de prata, acondicionado sob a forma de pastilhas; NV - café com vitaminas; NG - café solúvel, com 65 % de café torrado e 35 % de café verde; GAE - equivalentes de ácido gálico e VCEAC - capacidade antioxidante equivalente em vitamina C..... 133
- Figura 4.26** - Relação entre a granulometria das partículas do café torrado moído adquiridas no mercado português e o teor de polifenóis totais (A), a capacidade antioxidante pelos métodos ABTS (B) e DPPH (C) (n=6). As abreviaturas têm o seguinte significado: Gran - Granulometria GAE - equivalentes de ácido gálico e VCEAC - capacidade antioxidante equivalente em vitamina C..... 134
- Figura 4.27** - Cromatogramas da mistura de padrões e da amostra correspondente ao *blend* final BF. Os picos identificados e tempos de retenção aproximados correspondem (1; tR = 2,6 min) niacina, (2; tR = 3,2 min) trigonelina, (3; tR = 6,9 min) teobromina, (4; tR = 9,7 min) teofilina e (5, tR = 19 min) cafeína..... 142
- Figura 4.28** - Teor de CGA em subgrupos (di-CQA, FQA e CQA) nas amostras correspondentes às matérias-primas (CD e CTBF), *blend* final BF e controlos (DCH e QAL) em concordância com a tabela 4.55. Abreviaturas: CD – café dourado (café verde minimamente processado); CTBF - café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70% café robusta e 30% café arábica; BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*; QAL - café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*..... 144
- Figura 4.29** - Teor de CGA em subgrupos (di-CQA, FQA e CQA) nas amostras correspondentes às bebidas BF e controlos (DCH e QAL) extraídas pela máquina *DQOOL*. 146
- Figura 4.30** - Teor de CGA em subgrupos (di-CQA, FQA e CQA) nas amostras correspondentes às bebidas BF e controlos (DCH e QAL) extraídas pela máquina *Briel*. 146

Figura 4.31 - Cromatograma correspondente à análise dos CGAs e compostos derivados Angola I (<i>N-β-Caffeoyl-tyrosine</i>) e Angola II (<i>p-Coumaroyl-N-tyrosine</i>) da amostra correspondente ao <i>blend</i> final BF.	146
Figura 4.32 - Café verde robusta Angola (RAV).	151
Figura 4.33 - Café verde arábica Timor (ATV).	152
Figura 4.34 - Café verde arábica Brasil (+volume).	152
Figura 4.35 - Café verde arábica Brasil (- volume).	152
Figura 4.36 - Café arábica Brasil torrado (+ volume).	153
Figura 4.37 - Café arábica Brasil torrado (-volume).	153
Figura 4.38 - Café dourado.	153
Figura 4.39 - Partícula de café RAT.	153
Figura 4.40 - Partículas de pele de prata.	154
Figura 4.41 - Partículas de cacau.	154
Figura 4.42 - Micrografia do <i>blend</i> final BF com as micropartículas referentes às matérias primas que constituem o <i>blend</i> (pele de prata, cacau, café dourado e café torrado 70% café robusta e 30% café arábica CTBF).	154
Figura 4.43 - Distribuição das variáveis no plano principal formado pelas 1ª e 2ª componentes principais (CP 1 e CP 2). Abreviaturas: TRIG - trigonelina; CAF - cafeína; PF - polifenóis totais; SS - sólidos solúveis.	157
Figura 4.44 - Projeção das amostras de café torrado das diferentes origens. Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie <i>Coffea canephora</i> , com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie <i>Coffea canephora</i> , com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem em Timor; ABT - café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem no Brasil) num plano principal formado pelas 1ª e 2ª componentes principais (CP1 e CP2).	157
Figura 4.45 - Dendrograma das variáveis: polifenóis totais; cor; DPPH; ABTS; cafeína; sólidos solúveis; humidade; trigonelina; e pH, com base nas distâncias euclidianas entre elas.	158
Figura 4.46 - Dendrograma das cinco amostras de grão de café torrado (RCT - café torrado da espécie <i>Coffea canephora</i> , com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie <i>Coffea canephora</i> , com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem em Timor; ABT - café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem no Brasil) considerando 9 parâmetros físico-químicos: polifenóis totais; cor; DPPH; ABTS; cafeína; sólidos solúveis; humidade; trigonelina e pH com base nas distâncias euclidianas entre elas, quando projetadas no plano principal.	158
Figura 4.47 - Projeção das amostras de café torrado (nos planos definidos pelas 1ª, 2ª e 3ª componentes principais (CP 1, CP 2 e CP 3). Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie <i>Coffea canephora</i> , com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie <i>Coffea canephora</i> , com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem em Timor; ABT - café torrado da espécie <i>Coffea arabica</i> , com origem no Brasil; <i>Blend</i> 1 – <i>blend</i> composto por 25 % café robusta e 75 % café arábica; <i>Blend</i> 2 – <i>blend</i> composto por 50 % café robusta e 50 % café arábica; <i>blend</i> 3 – <i>blend</i> composto por 75% café robusta e 25% café arábica e CTBF – <i>blend</i> de café selecionado para constituir o <i>blend</i> final (BF) com 70 % café robusta e 30 % café arábica.	159

Figura 4.48 - Análise de componentes principais a partir da atividade antioxidante ABTS, DPPH e polifenóis totais, cor (H°) e granulometria..... 160

Figura 4.49 - Projeção das amostras descritas pelas variáveis definidas pelas componentes principais CP1 e CP 2. Abreviaturas: AS - café rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina; NV - Café com vitaminas; DCH - café controlo, torrado e moído, para extração nas máquinas de café *Briel* (máquina doméstica fabricada em Portugal) e *La Cimbali* (máquina profissional da restauração fabricada em Itália); BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais; NG - café solúvel, com 65% de café torrado e 35% de café verde; QAL - cápsula controlo de café torrado e torrefato, para extração em máquina *DQOOL* (máquina doméstica de cápsulas fabricada na China para a empresa Novadelta) e TSS - café com pele de prata, acondicionado sob a forma de pastilhas. 161

Figura 4.50 - Dendrograma das amostras de cafés do mercado (AS, QAL, NV, DCH, TSS e NG) e o BF com base nas distâncias euclidianas entre elas. Abreviaturas: TSS - café com pele de prata, acondicionado sob a forma de pastilhas; AS - café rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina; NV - café com vitaminas; DCH - café controlo, torrado e moído, para extração nas máquinas de café *Briel* (máquina doméstica fabricada em Portugal) e *La Cimbali* (máquina profissional da restauração fabricada em Itália); QAL - cápsula controlo de café torrado e torrefato, para extração em máquina *DQOOL* (máquina doméstica de cápsulas fabricada na China para a empresa Novadelta) e BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais. 162

Figura 4.51 - Projeção das variáveis nos planos definidos pelas componentes principais CP 1 e CP 2. As variáveis identificadas no plano são as seguintes: cafeína; matéria gorda total; sólidos solúveis; granulometria; polifenóis totais; atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS; açúcares totais (SUT); ácidos clorogénicos (CGA); trigonelina; ácidos gordos totais; fibra insolúvel; índice de insaturação (IS); cor; ácidos orgânicos e pH..... 164

Figura 4.52 - Projeção das amostras correspondentes aos controlos DCH e QAL e *blend* final BF, descritas pelas variáveis definidas pelas componentes principais CP1 e CP 2. 164

Figura 4.53 - Dendrograma das variáveis (cor, fibra insolúvel, DPPH, ABTS, polifenóis totais, matéria gorda total, ácidos clorogénicos, trigonelina, pH, açúcares totais, índice de insaturação, cafeína, ácidos orgânicos, sólidos solúveis, granulometria e ácidos gordos totais) com base nas distâncias euclidianas entre elas. 165

Figura 4.54 - Dendrograma das amostras dos controlos (QAL e DCH) e do *blend* final (BF) com base nas distâncias euclidianas entre elas. 166

Figura 4.55 - Projeção das amostras DCHLaCimbali, BFLaCimbali, DCHBriel, BFBriel, QALQOOL e BFQOOL descritas pelas variáveis definidas pelas componentes principais CP1 e CP 2. 167

Figura 4.56 - Dendrograma das bebidas de café expresso correspondentes ao *blend* final BF e respetivos controlos DCH e QAL após extração nas máquinas *La Cimbali*, *DQOOL* e *Briel* com base nas distâncias euclidianas entre elas. 168

Índice de tabelas

Tabela 2.1 - Principais ácidos gordos que constituem o grão de café nalguns genótipos.	22
Tabela 2.2 - Composição química aproximada em matéria seca dos cafés arábica e robusta verdes com adaptações.	23
Tabela 2.3 - Composição química do café torrado (torra média).	25
Tabela 2.4 - Análise dos perigos e descrição das medidas preventivas	30
Tabela 2.5 - Ocratoxina A em produtos agroalimentares (desde 2000 até à atualidade).	32
Tabela 2.6 - Influência da torra na redução de ocratoxina A.	33
Tabela 2.7 - Teores máximos de OTA em determinados géneros alimentícios de acordo com o Regulamento (CE) Nº 1881/2006.	36
Tabela 2.8 - Teores máximos de OTA em determinados géneros alimentícios de acordo com o Regulamento (UE) Nº 105/2010.	36
Tabela 2.9 - Resumo da aplicação do sistema HACCP na produção de café comercial.	37
Tabela 2.10 - Componentes que evidenciam a pele de prata como potencial ingrediente funcional.	43
Tabela 2.11 - Algumas evidências do cacau como ingrediente funcional.	44
Tabela 2.12 - Estudos que comprovam que o café é um potencial alimento funcional	45
Tabela 2.13 - Estudos que comprovam que a bebida de cacau apresenta benefícios para a saúde.	50
Tabela 3.1 - Codificação das amostras.	54
Tabela 3.2 - Composição dos <i>blends</i> de café torrado.	57
Tabela 3.3 - Amostras de café e respetivas máquinas de extração das bebidas.	62
Tabela 3.4 - Escala hedónica de 9 pontos desenvolvida pelo <i>US Army</i>	63
Tabela 3.5 - Formulações de café com cacau.	64
Tabela 3.6 - Formulações realizadas para teste de consumidor.	64
Tabela 3.7 - Critérios de classificação da granulometria das amostras de café comercial adquiridas no mercado.	70
Tabela 3.8 – Curva de calibração: absorvência a 750 nm em função da concentração de ácido gálico (g/L)	73
Tabela 3.9 - Curva de calibração: absorvência da percentagem de inibição a 734 nm e 515 nm em função da concentração de ácido ascórbico (g/L).	74
Tabela 3.10 - Curvas de calibração da trigonelina, ácido nicotínico, teobromina, teofilina e cafeína.	76
Tabela 3.11 - Programa de gradiente de eluição adotado para separação dos ácidos clorogénicos no café verde	77
Tabela 4.1 - Resultados da aprovação de <i>flavours</i>	82

Tabela 4.2 - Estudos realizados com o moinho do controlo de qualidade da Novadelta (estudo de 3 moagens padronizadas) e extraídas numa máquina de café expresso profissional.	82
Tabela 4.3 - Estudos realizados com o moinho de café expresso profissional utilizado na hotelaria e restauração e extraídas numa máquina de café expresso profissional.	83
Tabela 4.4 - Moagens realizadas com vários ingredientes e diferentes percentagens, visando a otimização de um <i>blend</i> final, efetuadas num moinho profissional da hotelaria e restauração e extraídas numa máquina de café expresso profissional.	84
Tabela 4.5 - Granulometria do <i>blend</i> após moagem no moinho de café expresso.	85
Tabela 4.6 - Resumo dos comentários respeitantes à apreciação dos provadores realizados nas 4 amostras para as diferentes características.	87
Tabela 4.7 - Resultados do exame olfativo e visual dos cafés verdes comerciais estudados (ABV, AHV, ATV, RAV e RCV) segundo a NP 1795	93
Tabela 4.8 - Projeção da classificação e quantificação exaustiva dos defeitos do café robusta de Angola verde baseada na Tabela de referência dos defeitos do café verde (ISO 10470:2004).	94
Tabela 4.9 - Principais defeitos (PVA, Brocados e Quebrados) detetados nos grãos de café verde comercial (RAV, RCV, ABV, ATV e AHV).....	95
Tabela 4.10 - Percentagem de grãos de café verde correspondentes às amostras que compõem o BF, retidos em cada crivo / recetáculo das amostras.	97
Tabela 4.11 - Percentagem de grãos de café verde correspondentes às amostras da espécie <i>C. arabica</i> , provenientes do Brasil, retidos em cada crivo/recetáculo das amostras.	98
Tabela 4.12 - Massa de 1000 grãos de café verde nas diferentes amostras de café verde comercial RAV, RCV, ATV, AHV, AB+v e AB-v.	101
Tabela 4.13 - Teor de humidade nas diferentes amostras de café verde que constituem o <i>blend</i> final BF.	101
Tabela 4.14 - Valores próprios e extração de componentes principais para 5 parâmetros analíticos das amostras de café verde provenientes de 5 origens (AHV - Café verde comercial da espécie <i>Coffea arabica</i> com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie <i>Coffea arabica</i> com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie <i>Coffea canephora</i> com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie <i>Coffea canephora</i> com origem nos Camarões).....	102
Tabela 4.15 - Coeficientes de correlação entre as análises tecnológicas realizadas aos cafés verdes e as duas primeiras componentes principais.....	102
Tabela 4.16 - Massa volumica compactada nas diferentes amostras de café torrado e moído (moagem universal).....	105
Tabela 4.17 - Aumento de volume do grão de café torrado.....	105
Tabela 4.18 - Perda de massa dos grãos na torra nas diferentes amostras que constituem o BF (RAT, RCT, AHT e ATT) e 2 amostras teste (ABT-v e ABT+v).	106
Tabela 4.19 - Teor de humidade nas diferentes amostras de café torrado em grão (RCT, RAT, AHT, ATT e ABT) que constituem o BF.	107
Tabela 4.20 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos das amostras de café torrado moído.....	108

Tabela 4.21 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos das matérias-primas (pele de prata, cacau e café dourado) que constituem o <i>blend</i> final BF.	109
Tabela 4.22 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos das amostras de café torrado adquiridas no mercado português e o <i>blend</i> final BF.	109
Tabela 4.23 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos das bebidas <i>extraídas do BF</i> , controlos (DCH e QAL) e amostras do mercado (AS e TSS) extraídas pelas diferentes máquinas (<i>Briel</i> , <i>DQOOL</i> e <i>La Cimbali</i>).	110
Tabela 4.24 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos do creme de cada café expresso BF, controlos (DCH e QAL) e amostras do mercado (AS e TSS) extraídas pelas diferentes máquinas (<i>Briel</i> , <i>DQOOL</i> e <i>La Cimbali</i>).	111
Tabela 4.25 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos H ⁰ (tonalidade) do <i>blend</i> final e respetivos controlos para comparação das extrações efetuadas pelas 3 máquinas (<i>Briel</i> , <i>La Cimbali</i> e <i>DQOOL</i>).	112
Tabela 4.26 - Coeficientes de correlação entre as 1 ^a , 2 ^a e 3 ^a componentes principais (CP 1, CP 2 e CP 3) e as variáveis pó, bebida e creme para o parâmetro tonalidade (H ⁰).	113
Tabela 4.27 - Níveis de pH nas amostras de café torrado correspondentes às espécies e origens selecionadas para formular o <i>blend</i> final BF.	115
Tabela 4.28 - Níveis de pH das matérias-primas isoladas que constituem o BF.	115
Tabela 4.29 - Níveis de pH nos <i>blends</i> de café BF e respetivos controlos.	116
Tabela 4.30 - Níveis de pH nas bebidas de café expresso extraídas pelas máquinas <i>DQOOL</i> e <i>Briel</i> para o <i>blend</i> final BF e respetivos controlos (QAL e DCH).	117
Tabela 4.31 - Níveis de sólidos solúveis nas amostras de café torrado das diferentes espécies e origens.	118
Tabela 4.32 - Teor de sólidos solúveis no BF e nos controlos DCH e QAL.	119
Tabela 4.33 - Caracterização da granulometria das amostras de café do mercado (TSS, AS e NV) BF e controlos DCH e QAL com base na percentagem de massa retida.	120
Tabela 4.34 - Teor de humidade nas diferentes matérias-primas que constituem o BF.	121
Tabela 4.35 - Teor de humidade nos controlos QAL e DCH e no <i>blend</i> final BF.	121
Tabela 4.36 - Teor de fibra insolúvel determinado nas matérias-primas que constituem o <i>blend</i> final BF.	122
Tabela 4.37 - Teor de fibra insolúvel determinado no BF e controlos (DCH e QAL).	123
Tabela 4.38 - Percentagem de matéria gorda total e teor de ácidos gordos totais das matérias-primas (café dourado, pele de prata, CTBF e cacau) que constituem o <i>blend</i> final BF e respetivos controlos DCH e QAL.	125
Tabela 4.39 - Teor de matéria gorda total e teor de ácidos gordos totais do extrato liofilizado correspondente às bebidas extraídas pela máquina de café expresso <i>Briel</i> e pela máquina <i>DQOOL</i> (cápsulas) a partir do <i>blend</i> final BF e controlos DCH e QAL.	126
Tabela 4.40 - Composição do teor de ácidos gordos do óleo das matérias-primas que constituem o <i>blend</i> final BF.	127

Tabela 4.41 - Composição dos ácidos gordos das amostras de café torrado moído correspondentes ao <i>blend</i> final BF e respetivos controlos (DCH e QAL).	128
Tabela 4.42 - Composição dos ácidos gordos das bebidas de café correspondentes ao <i>blend</i> final BF e respetivos controlos (DCH e QAL) extraídos pelas diferentes máquinas <i>Briel</i> e <i>DQOOL</i>	129
Tabela 4.43 - Resultados da capacidade antioxidante avaliada pelos diferentes métodos <i>Folin Ciocalteu</i> , <i>ABTS</i> e <i>DPPH</i> , para as diferentes matérias-primas que constituem o <i>blend</i> final BF.....	131
Tabela 4.44 - Resultados da capacidade antioxidante avaliada pelos diferentes métodos <i>Folin Ciocalteu</i> , <i>ABTS</i> e <i>DPPH</i> , para as bebidas correspondentes ao <i>blend</i> final BF e controlos (DCH e QAL) extraídas pelas máquinas <i>Briel</i> , <i>QOOL</i> e <i>La Cimbali</i>	135
Tabela 4.45 - Teor de cafeína nos cafés torrados correspondentes às diferentes origens geográficas (RAT, RCT, ABT, AHT e ATT) e nos <i>blends</i> formulados a partir dos mesmos cafés (<i>Blend 1</i> , <i>Blend 2</i> e <i>Blend 3</i>).	136
Tabela 4.46 - Teor de cafeína das matérias-primas que constituem o <i>blend</i> final BF (CTBF, café dourado, pele de prata e cacau).....	137
Tabela 4.47 - Teor de cafeína no <i>blend</i> final BF e nos controlos DCH e QAL.	138
Tabela 4.48 - Teor de cafeína nas bebidas de café expresso BFBriel, DCHBriel, BFQOOL e QALQOOL.	138
Tabela 4.49 - Teor de trigonelina nos cafés torrados correspondentes às diferentes origens geográficas (RAT, RCT, ABT, AHT e ATT) e nos <i>blends</i> formulados a partir dos mesmos cafés (<i>Blend 1</i> , <i>Blend 2</i> e <i>Blend 3</i>).....	139
Tabela 4.50 - Teor de trigonelina nas matérias-primas que constituem o <i>blend</i> final BF (CTBF, café dourado, pele de prata e cacau).....	140
Tabela 4.51 - Teor de trigonelina no <i>blend</i> final BF e nos controlos DCH e QAL.	140
Tabela 4.52 - Teor de trigonelina nas bebidas de café expresso BFBriel, DCHBriel, BFQOOL e QALQOOL.	141
Tabela 4.53 - Teor de compostos resultantes da degradação da trigonelina (ácido nicotínico, n-metil piridinas e nicotinamida) nas bebidas de café expresso BFBriel, DCHBriel, BFQOOL e QALQOOL.	141
Tabela 4.54 - Teor de teobromina no cacau, <i>blend</i> final (BF sólido) e respetivas bebidas extraídas pelas máquinas <i>Briel</i> (BF Briel) e <i>DQOOL</i> (BF QOOL).	142
Tabela 4.55 - Teor de ácidos clorogénicos, determinados em matérias-primas (CD e CTBF), <i>blend</i> final BF e respetivos controlos de café torrado e moído DCH e QAL.	144
Tabela 4.56 - Teor de ácidos clorogénicos (mg/mL) de bebidas de café expresso do <i>blend</i> final e respetivos controlos extraídas em máquinas <i>DQOOL</i> (BFQOOL e QALQOOL) e <i>Briel</i> (DCHBriel e BFBriel).	145
Tabela 4.57 - Composição de açúcares nas matérias-primas pele de prata e cacau.	148
Tabela 4.58 - Composição de açúcares nos <i>blend</i> final BF e nos controlos DCH e QAL.....	149
Tabela 4.59 - Composição de açúcares nas bebidas de café correspondentes aos controlos DCH e QAL e <i>blend</i> final BF após extração em máquinas <i>DQOOL</i> , <i>Briel</i> e <i>La Cimbali</i>	149
Tabela 4.60 - Composição de ácidos orgânicos nas matérias-primas pele de prata e cacau.....	150
Tabela 4.61 - Composição de ácidos orgânicos nos <i>blends</i> de café BF e nos controlos DCH e QAL.	150

Tabela 4.62 - Composição de ácidos orgânicos nas bebidas de café após extração em máquinas <i>Briel</i> , <i>DQOOL</i> e <i>La Cimbali</i>	151
Tabela 4.63 - Coeficientes de correlação entre as variáveis iniciais e os dois componentes principais CP).	156
Tabela 4.64 - Coeficientes de correlação entre as 1 ^a , 2 ^a e 3 ^a componentes principais (CP 1, CP 2 e CP 3) e as variáveis cor, cafeína e trigonelina.....	159
Tabela 4.65 - Coeficientes de correlação entre as três primeiras componentes principais (CP 1, CP 2 e CP 3) e as variáveis cor (H ^o), granulometria, DPPH, polifenóis totais e ABTS.....	160
Tabela 4.66 - Coeficientes de correlação entre as 2 componentes principais CP1 e CP 2 e as variáveis estudadas: cafeína, matéria gorda total, sólidos solúveis, granulometria, polifenóis totais, atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS, açúcares totais, ácidos clorogênicos, trigonelina, ácidos gordos totais, fibra insolúvel, índice de insaturação, cor, ácidos orgânicos e pH.....	163
Tabela 4.67 - Coeficientes de correlação entre as 2 componentes principais CP1 e CP 2 e as variáveis estudadas.....	167

1. Introdução

1.1. Contextualização

O atual estilo de vida da população remete para comportamentos e hábitos que preencham as suas necessidades, valorizando a saúde e priorizando a prevenção de doenças.

O contexto de crise económico-social, nomeadamente a retração no consumo e consequentes desafios que se colocam às empresas, condiciona o desenvolvimento de novos produtos. Neste contexto, produtos que estejam disponíveis para a população em geral, que contribuem para a satisfação das respetivas necessidades energéticas, promovendo a saciedade, e que proporcionem efeitos benéficos para a saúde do consumidor, podem considerar-se relevantes. Acresce ainda que o estudo de subprodutos agroindustriais com vista à sua valorização, reprocessamento e incorporação em alimentos, também poderá ser uma mais-valia. De resto, tal já se verifica em diversos produtos, desde grainhas e cascas de uvas em massas e farinhas, passando pelos subprodutos da indústria do pescado em polpas, produtos para barrar e formulação de salsichas, até à pele de prata do café. A adição de nutracêuticos aos alimentos convencionais, nomeadamente antioxidantes, prebióticos, probióticos, vitaminas e peptídeos bioativos, com características funcionais, também contribui para a formulação de alimentos funcionais e / ou enriquecidos.

De acordo com o “Plano de Ação para a Estratégia Global para Prevenção e Controlo de Doenças Não-Transmissíveis (2008-2013)”, a nível quantitativo, o impacte do cancro, das doenças cardiovasculares (DCV), da diabetes e das doenças respiratórias crónicas poderia ser atenuado. Até 80 % das doenças cardíacas, derrames (acidentes vasculares cerebrais) e diabetes tipo 2 e mais de um terço dos cancros poderiam ser prevenidos, eliminando fatores de risco comuns, principalmente o uso de tabaco, alimentação inadequada, sedentarismo e uso abusivo do álcool.

A procura de alimentos funcionais tem aumentado, possivelmente devido ao incremento dos custos da saúde e da esperança média de vida, assim como da melhoria da qualidade de vida por parte da população (ainda que incidindo mais na faixa etária correspondente à terceira idade).

O termo “alimentos funcionais” foi usado pela primeira vez no Japão, na década de 1980, para os produtos alimentares enriquecidos com componentes especiais que possuem efeitos fisiológicos vantajosos [1]. O conceito de “alimento funcional” foi promovido em 1984, por cientistas japoneses, que estudaram as relações entre nutrição, análise sensorial, fortificação e modulação dos sistemas fisiológicos através da realização do projeto “*Systematic Analysis and Development of Food Function*”. Em 1991, o Ministério da Saúde Japonês estabeleceu regras para a aprovação de uma categoria de alimentos específicos relacionados com a saúde denominado FOSHU (*Foods for Specified Health Use*), que incluiu a criação das alegações de saúde específicas para esse tipo de alimentos [2].

Numa fase subsequente, a Europa e os Estados Unidos da América, compreendendo a importância dos alimentos funcionais promoveram então a respetiva introdução nos países / estados. De facto, ter-se-á então percebido que, para além destes produtos reduzirem o custo dos cuidados de saúde

com o envelhecimento da população, o alimento funcional também poderia constituir para a indústria alimentar uma mais-valia económica. As culturas ocidentais e orientais no entanto divergem consideravelmente sobre a natureza dos alimentos funcionais. No Japão os alimentos funcionais tradicionais constituem uma classe distinta de produto, o que significa que a aprovação após um símbolo “*FOSHU*” pode ser exibida no rótulo dos alimentos. Nesses produtos (muitas vezes referidos como alimentos funcionais de primeira geração), a função é considerada uma prioridade em relação ao sabor.

1.2. Problema, questões e objetivos de investigação

Este estudo teve como finalidade investigar formulações baseadas na combinação de café com diferentes ingredientes, incorporando propriedades aromatizantes e possíveis efeitos benéficos para a saúde do consumidor.

Neste enquadramento formulou-se a seguinte questão de investigação:

- Qual a viabilidade de formulação de um *blend* de café funcional, que preserve os compostos antioxidantes, sustentável, isento de ocratoxina A, com um *flavour* apreciável, associado a um processamento e uma história de produção inteligentes?

Equacionando a questão central da investigação em causa, definiram-se os seguintes objetivos específicos:

- Investigar as combinações de café com diversos ingredientes, nomeadamente com cacau, cardamomo, gengibre, alho e alecrim, em diferentes percentagens e com diferentes extrações, incluindo a cafeteira de filtro e a cafeteira Napolitana;
- Selecionar e caracterizar os grãos de café em estudo - espécies selecionadas, percentagens, origens, técnicas de processamento (via húmida ou seca, tempo / temperatura de torra) e percentagem de grãos defeituosos. Acesso a registos referentes à rastreabilidade dos cafés com origem, espécie, tempo / temperatura da torra, lotes e / ou outros dados que permitam a identificação do produto (café);
- Estudar e desenvolver uma técnica de processamento com vista à retenção dos compostos antioxidantes no café. Controlar e registar os tempos / temperaturas da torra para posterior comparação com outros lotes através de análises laboratoriais;
- Investigar a possibilidade de desenvolver um ingrediente a incorporar, minimamente processado;
- Desenvolver fórmulas de café com um ingrediente selecionado e incorporado (ou mistura de ingredientes);
- Estudar as moagens e as extrações, de modo a encontrar um equilíbrio entre estas duas operações, proporcionando um teor de sólidos solúveis apreciável na bebida, bem como o creme característico de um café expresso;
- Realizar testes de extração com diferentes máquinas de café expresso, de modo a otimizar as moagens aplicadas aos diferentes ingredientes adicionados;
- Realizar provas de análise sensorial com um painel de provadores treinados (i.e., painel de provadores da Novadelta);
- Realizar testes sensoriais de consumidores (i.e., provas hedónicas);

- Caracterizar o produto formulado (*blend* final), matérias-primas, controlos e bebidas resultantes da extração em máquinas de café expresso.
- Formular uma bebida à base de café, cacau, gengibre, cardamomo ou outro ingrediente referido anteriormente;
- O produto formulado deverá ter um sabor adocicado para reduzir a adição de açúcar na bebida final;
- Assegurar a rastreabilidade dos grãos de café: identificação da origem, espécie, tempo / temperatura da torra e lotes;
- Assegurar um processamento otimizado (i.e., equilíbrio nas torras): Torra ideal do ponto de vista da preservação dos ácidos clorogénicos e da destruição da ocratoxina A;
- Desenvolver um *blend* que preserva os ácidos clorogénicos, isento de ocratoxina A, com um *flavour* desejável, associado a um processamento e uma história de produção inteligentes.

As questões e os objetivos de investigação atenderam ao contexto socioeconómico atual.

2. Enquadramento Teórico

2.1. Importância socioeconómica associada à inovação de alimentos funcionais

2.1.1. Economia e Inovação – A sua relevância para Portugal no contexto atual

De acordo com a análise comparativa efetuada pelo *European Innovation Scoreboard* [3], referente ao desempenho dos países da União Europeia e no que diz respeito à inovação, Portugal está inserido no grupo dos “inovadores moderados” juntamente com a Grécia, República Checa, Hungria, Itália, Malta, Polónia, Eslováquia e Espanha. Este grupo apresenta um desempenho inferior à média dos países da União Europeia. Os líderes no desempenho da inovação são a Suécia, Dinamarca, Finlândia e Alemanha. O crescimento do desempenho em sistemas de investigação, vínculos, empreendedorismo e património intelectual posiciona-se acima da média. O crescimento positivo é observado para a maioria dos indicadores, e em particular para a área de Investigação & Desenvolvimento, pedidos de patente, desafios sociais e projetos comunitários. Nas outras dimensões situa-se abaixo da média - apresenta-se em 15.º lugar no *ranking* dos 27 países da União Europeia. Salienta-se o 3.º lugar na dimensão “Inovação”, com um crescimento médio anual de 5,4 % no indicador correspondente à introdução de inovações de produto ou processo. No entanto, quando se verifica o indicador correspondente à introdução de inovações de *marketing* ou organizacional deteta-se um decréscimo de 0,8 %. Observa-se, portanto, uma excelente classificação na capacidade de inovar, e uma baixa na aplicação da mesma.

A inovação e lançamento de novos produtos representa para as empresas, num contexto económico cada vez mais concorrencial, um meio de conquista e permanência nos mercados. A inovação constitui assim o único meio eficaz para relançar a procura, recuperar margens e sensibilizar a distribuição com os novos produtos por antecipação à concorrência. Apesar da inovação, materializada na investigação e desenvolvimento de novos produtos, ser cada vez mais arriscada e onerosa, propicia um rápido lançamento de produtos no mercado, incrementando a competitividade.

2.1.2. Alimentos funcionais – Desenvolvimento, *marketing* e aceitação do consumidor

O interesse pelo desenvolvimento de alimentos funcionais é notório por parte dos consumidores, indústrias, governos e universidades [4]. A indústria alimentar considera diversas variáveis para desenvolver ou reestruturar alimentos funcionais, como a aceitação sensorial, custos, características químicas e propriedades funcionais [5].

Os Estados Unidos da América representam o mercado mais importante e dinâmico com uma quota de mercado superior a 50 %. Globalmente, os alimentos funcionais têm uma quota de mercado que oscila em torno de 2 - 3 % no mercado de alimentos da União Europeia [6]. Na Europa, a quota de mercado de alimentos funcionais em 2005 era inferior a 1 % do mercado total de alimentos e bebidas. A Alemanha, França, Reino Unido e Holanda são os países que se destacam no mercado de alimentos funcionais [7]. Em 2006, o mercado de alimentos funcionais representou cerca de 17 % do

mercado total de alimentos em Espanha; entre 2000 e 2005 o crescimento registado foi superior a 50 %, prevendo-se em 2020 uma quota de 40 % [8]. No entanto, deve ter-se em conta que o mercado europeu é heterogéneo e que se verificam diferenças regionais muito significativas no uso e aceitação dos alimentos funcionais. De facto, o interesse dos consumidores em alimentos funcionais na Europa Central e nos países do Norte da Europa é tendencialmente maior do que nos países do Mediterrâneo, onde os consumidores apreciam alimentos naturais, frescos e que consideram mais saudáveis [6, 9].

Além de recursos e *know-how* em tecnologia e investigação a nível nutricional, a prova da eficácia dos produtos de alimentação funcional também requer conhecimentos na área da medicina. Para cumprir os rigorosos requisitos de verificação científica da eficácia dos alimentos funcionais, os estudos epidemiológicos deverão ser efetuados a partir de modelos retrospectivos e prospetivos, validados estatisticamente, e com apresentação de estudos de intervenção em seres humanos [6].

As empresas multinacionais de produtos alimentares, que costumam possuir várias marcas estabelecidas e bem conhecidas, têm os recursos necessários para o desenvolvimento de produtos e comercialização de alimentos funcionais, apresentando assim mais vantagens competitivas em relação às pequenas e médias empresas [6]. Note-se também que, para além da indústria alimentar, também a indústria farmacêutica tem manifestado interesse por este domínio, o que consequentemente levou ao surgimento de uma "zona cinzenta" que descreve a sobreposição de interesses dos alimentos funcionais pelas farmacêuticas [10]. Este último é representado por várias empresas como *Novartis Consumer Health*, *Glaxo Smith Kline*, *Johnson & Johnson* ou *Abbott Laboratories*. Estas empresas consideram relevante o investimento em alimentos funcionais, aspeto que se vem traduzindo num menor tempo de desenvolvimento destes produtos, a par de um menor custo de produção e comercialização. Além disso, estas empresas têm uma ampla experiência na organização de ensaios clínicos para comprovar as alegações de saúde de um produto específico. Por oposição, as empresas farmacêuticas em geral, não têm conseguido ganhar posição no mercado de alimentos funcionais devido aos diversos défices no desenvolvimento e comercialização de um produto alimentar de elevada qualidade [11]. Um exemplo de insucesso foi o da *Novartis Consumer Health* que lançou uma série de alimentos funcionais, incluindo biscoitos, cereais, barras de cereais e bebidas em diferentes países europeus, sob a marca "AVIVA" em 1999. No entanto, as vendas foram inferiores ao esperado e a *Novartis* retirou os produtos "AVIVA" da maioria dos mercados após 1 ano [6].

Um terceiro grupo de produtores de alimentos funcionais são as empresas especializadas numa categoria específica de produto que, na maioria dos casos, pertencem aos líderes de mercado de determinado país, como por exemplo na Alemanha a *Molkerei Alois Muller* (*Procult* produtos láteos), *Eckes* (bebidas ACE) ou *Becker Fruchtsäfte* (ACE sumo de frutas).

Existe um número limitado de alimentos funcionais provenientes de pequenas e médias empresas (PME). Essas empresas produzem principalmente alimentos funcionais para pequenos nichos de mercado, ou são pioneiras na investigação e desenvolvimento de determinados produtos

comercializados posteriormente por empresas multinacionais. Muitas vezes, estes produtos podem sobreviver apenas por um período de tempo bastante curto (que raramente ultrapassa 2 anos). Acresce ainda que as PME não têm *know-how* e recursos para uma I&D própria e intensiva e não se podem arriscar a gastar elevadas quantias em informações específicas ou campanhas publicitárias, consideradas necessárias para abrir um segmento específico do mercado de alimentos funcionais como empresa pioneira [6].

No âmbito dos alimentos funcionais também as empresas de retalho alimentar tendem a proliferar e começam a introduzir as marcas de rótulo próprio. Na Alemanha, por exemplo, isso relaciona-se, em especial, com alimentos relativamente mais baratos comercializados pelo *Aldi*, *Lidl* e *Penny*, que lançaram produtos lácteos probióticos e prebióticos nos últimos anos [6]. Em Portugal também as empresas de retalho alimentar, com destaque para o *Pingo Doce* e *Continente*, têm produtos de marca própria com preço mais reduzido.

2.1.3. Representação económica da produção e consumo de café

Com base nas informações disponíveis pela ICO (2011) [12], a estimativa preliminar da produção total no ano de 2011/12 aponta para cerca de 130 milhões de sacos com 60 kg de capacidade. As comparações efetuadas entre 2010 e 2009 apontaram um aumento nas exportações (de 96,1 para 96,7 milhões de sacos) e importações (de 127,1 para 131,6 milhões de sacos), assim como de reexportações (de 36,2 para 39,1 milhões de sacos). As principais conclusões evidenciam um crescimento do consumo mundial de café, o que pode incentivar as exportações e reexportações. Note-se que em maio de 2011, os preços dos cafés arábica desceram 3,4 % no caso dos “Suaves Colombianos”, 3 % no caso dos “Outros Suaves” e 1,7 % no caso dos “Naturais Brasileiros”. Paralelamente os preços dos cafés robusta aumentaram 3,9 %. Consequentemente, constata-se uma diminuição nos diferenciais de preços entre os cafés arábica e robusta. Os preços a retalho em 2010 caíram para Portugal, Eslovénia, Espanha e Bulgária em 7 %, 5,2 %, 1,2 % e 0,8 %, respetivamente. Nos outros países houve uma subida dos preços a retalho. Entre 2001 e 2010, os preços do retalho evidenciaram taxas médias positivas de crescimento em quase todos os países, com exceção do Japão, Portugal e Suíça, que apresentaram taxas negativas.

Portugal apresenta-se no mercado do café como um país importador e reexportador. Em 2009 importou 733.773 sacos de café verde, 98.357 sacos de café torrado ECV (equivalentes em café verde) e 54.595 sacos de café solúvel ECV. Paralelamente reexportou 1607 sacos de café verde, 154.246 de café torrado e 9788 de café solúvel. O consumo interno total corresponde a 721.363 sacos, que equivalem a 4,04 kg *per capita* [13]. De acordo com dados referentes a 2009, os países que lideram o consumo de café são a Finlândia com 11,91 kg, a Noruega com 8,92 kg, a Dinamarca com 7,89 kg, a Suíça com 7,65 kg, a Suécia com 7,35 kg, e a Alemanha com 6,5 kg de consumo *per capita* [14].

Segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE), a Balança Alimentar Portuguesa apresenta os produtos alimentares estimulantes com maiores disponibilidades de cacau e chocolate a

ultrapassarem as do café [15]. Com efeito, durante o período correspondente a 2003-2008, as disponibilidades de café mantiveram-se constantes enquanto as de cacau e chocolate subiram 29 %.

O café torrado está incluído no grupo dos principais produtos produzidos segundo a lista *Prodcom*, 2009 que, segundo o INE, IP - Estatísticas de Produção Industrial, referem que no ano de 2008 Portugal produziu 37.015 toneladas vendeu 36.559 toneladas (situação que representou um valor de vendas de 280×10^6 euros) [16].

2.2. Ciência do café

2.2.1. Da sua enigmática descoberta à expansão atual

A origem do cafeeiro, e por conseguinte dos grãos de café, e a sua descoberta como bebida, constitui um enigma largamente associado a lendas [17, 18]. Para além das referências bíblicas que evidenciavam a torra de grãos e os pressupostos que a bebida que Abigail dava a David para acalmar o ardor sensual seria café, passando pela Odisseia de Homero que sugere que o “*néphantés*” também o seria pelos efeitos de colmatar a tristeza, outras lendas evidenciam ainda a descoberta do café e das suas propriedades estimulantes [18]. As mais referidas revelam sempre um efeito benéfico associado; por exemplo a bebida de café descoberta pelo arcanjo Gabriel terá permitido restaurar as forças a Maomé, o padre Ali Bim Omer através de uma infusão de grãos do lémen curou doenças de pele a peregrinos, o pastor Caldi que verificou a agitação nos seus animais quando os mesmos comiam as folhas e os frutos do cafeeiro na Etiópia e ainda os monges que para enfrentar longas noites de vigília e oração ingeriam uma bebida que era a infusão dos frutos [17].

2.2.2. Origem do cafeeiro e do café

Com mais de 400.000 anos, os primeiros cafeeiros provavelmente são originários do golfo da Guiné (figura 2.1). A partir desta região terão colonizado a África equatorial e originado as cerca de 120 espécies selvagens atuais [19].

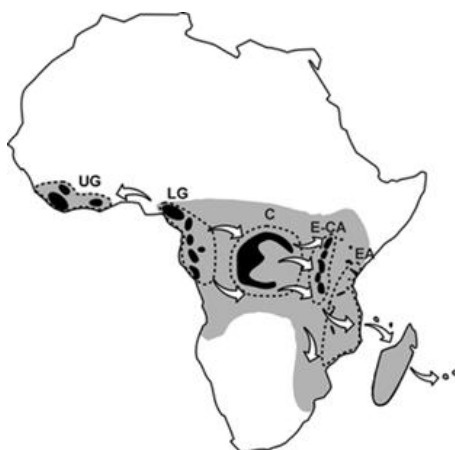


Figura 2.1 - Reconstrução da dispersão do género *Coffea* a partir do seu centro de origem no Golfo da Guiné com distribuição real (coloração cinzenta) e supostos refúgios florestais (coloração preta) durante a última grande glaciação (18.000 anos atrás) Regiões biogeográficas na África são descritas por pontos UG (Alta Guiné), LG (Baixa Guiné), C (Congólia), E-CA (África Centro-Oriental) e a EA (África Oriental) [19].

Julga-se que no século XV, com a deslocalização do “Corno de África” (Etiópia) para a Arábia, o café começou a ser cultivado, iniciando-se então a produção de uma infusão dos grãos denominada “*kawah*”, que significa vinho. A origem da torra possivelmente terá sido na Pérsia. Em 1616, os holandeses adquiriram grãos de café férteis na Arábia e levaram-nos para a Holanda onde os semearam em estufas. Daí a cultura do café disseminou-se pelo mundo, primeiro África, depois Ásia, Europa e por fim as Américas, em 1730 já existiam culturas no Haiti, Jamaica, Cuba e Brasil). O primeiro estabelecimento de café “*coffeehouse*” terá surgido em Meca, tinha como nome “*Kaveh Kanes*” e representava um local com uma cultura social e empresarial no mundo árabe. Posteriormente, em 1683, surgiu o primeiro café na Europa, mais concretamente em Veneza. A primeira referência do café na América do Norte data de 1668. Foi no século XVI que o café começou a adquirir uma importância económica e social relevante no mundo [20].

2.2.2.1. Classificação do cafeeiro

Os cafeeiros que constituem o género *Coffea*, pertencente à família *Rubiaceae*, mais comumente utilizados para a produção de café, e com relevância económica, são os da espécie *Coffea arabica* L. (alotetrapóide com $2n = 4x = 44$ cromossomas, autógama com cerca de apenas 10 % de polinização cruzada e é endémica da Etiópia, SE Sudão e norte do Quênia) correspondente ao café arábica, e da espécie *Coffea canephora* Pierre *ex.Froehner* (diplóide com $2n = 2x = 22$ cromossomas, alógama com sistema de incompatibilidade do tipo gametofítico endémica para vários países através de flora da África tropical) correspondente ao café robusta [21]. Outras espécies com uma escala de produção reduzida mas com alguma relevância são a *Coffea liberica* Bullex.Hiern, correspondente ao café libérica, originária da África Ocidental, a *Coffea dewevrei* cv. *Excelsa Chevalier*, correspondente ao café excelsa, originária da África Central, e a *Coffea racemosa* correspondente ao café *Inhambane*, originária da África Oriental.

Antes dos grãos de café constituírem as sementes dos cafeeiros que vão ser submetidas a uma torra, integraram um fruto (também denominado *baga* ou *cereja do café*) que consiste numa casca externa lisa e dura conhecida por *exocarpo* que poderá ter diferentes colorações (verde, amarelo, laranja, vermelho ou violeta) consoante o grau de maturação e / ou o genótipo. O *exocarpo* envolve uma polpa macia, amarelada, doce e fibrosa, o *mesocarpo*. Após esta camada segue-se uma camada fina de *pectina* que se apresenta translúcida, incolor, viscosa e hidratada denominada de *mucilagem* [22, 23]. Subjacente, a esta camada viscosa encontra-se o *pergaminho* ou *endocarpo* e finalmente a *pele de prata* ou *endosperma*, que envolve as sementes e é expelida após a torra. As sementes que constituem o fruto do cafeeiro são geralmente duas. Os grãos de café apresentam uma estrutura celular composta por paredes celulares muito densas que caracterizam a dureza das sementes. A constituição do fruto do cafeeiro representa-se na figura 2.2.

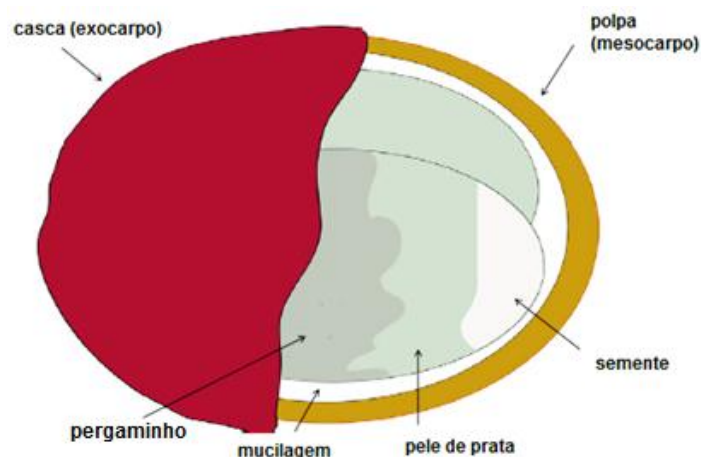


Figura 2.2 - Esquema das diferentes camadas do fruto do cafeeiro [24].

2.2.3. Tecnologia do café - Sistemas de produção do café verde comercial

As boas práticas agrícolas (BPA) no cultivo e benefício do café são fundamentais na obtenção de um produto com qualidade e elevada rentabilidade [25]. Num programa de BPA aplicado ao cultivo e benefício do café são considerados, prioritariamente, os diferentes tipos de perigos que podem afetar a segurança do consumidor final, bem como aqueles relacionados com aspetos inerentes à qualidade do produto. Neste tipo de programas equacionam-se as etapas de plantação, cultivo, colheita, secagem, armazenamento e transporte. Os fluxogramas de produção do café: “Da seleção das sementes à bebida de café” e descrição das diversas etapas são importantes para uma melhor identificação e compreensão do sistema de produção do café.

2.2.3.1. Etapas de pré-colheita

Na pré-colheita, as boas práticas agrícolas deverão ser sempre consideradas, pois são preponderantes para a colheita de um grão de qualidade. As mais relevantes na plantação e cultivo são, sequencialmente: seleção das sementes, semear em germinadores (germinação das mudas), colocar as mudas em sacos, preparação do solo, preparação e transplante das mudas (desenvolvimento vegetativo), envolver com terra, adubação do cafeeiro, proteção do cafeeiro contra pragas, pestes e ervas daninhas (uso de produtos fitofarmacêuticos), irrigação e outros cuidados culturais na floração e frutificação.

As condições de cultivo exercem uma influência significativa na segurança e qualidade da bebida. Fatores como condições climáticas, tratos culturais, tratamentos fitossanitários, adubação, cuidados na colheita, etc., vão influenciar a contaminação dos grãos e a qualidade da bebida final. É de extrema importância a otimização de algumas operações que afetam a segurança do produto, destacando-se as ações fitossanitárias. A monitorização de pragas, doenças (ferrugem alaranjada das folhas, *coffee berry disease*) e ervas daninhas têm como objetivo racionalizar e limitar o uso de produtos fitofarmacêuticos, minimizando a contaminação dos grãos. No cultivo do café, a execução do zoneamento climático é um procedimento fundamental que contribui para definir áreas sujeitas a geadas e, conseqüentemente, menos indicadas para o cultivo. A prevenção da geada na plantação é

determinante na obtenção de uma boa colheita. A escolha do local, a plantação de arbustos para quebra ventos (grevíleas, hibiscos ou outras plantas de porte alto) adequadas a intercalarem na formação da lavoura, a plantação de arbustos temporários (por exemplo guandu ou cana-de-açúcar), no primeiro ano de formação da lavoura para minimizar os efeitos nocivos provocados pelo vento, a cobertura com restos culturais (manta morta) e o envolver com terra junto aos troncos dos cafeeiros são algumas práticas que deverão ser consideradas. A deficiência hídrica é outro fator limitante para o cultivo do café, sendo necessárias medidas preventivas como a arborização e / ou instalação do sistema de irrigação.

2.2.3.2. Colheita

O planeamento da colheita é efetuado quando cerca de 70 % dos frutos se encontram maduros. A colheita é efetuada nas grandes lavouras num período máximo de 2 a 3 meses. Para o caso dos grãos seguirem o processamento via seca, os terreiros e secadores são dimensionados para comportar a secagem dos frutos assim que os mesmos cheguem ao local de secagem, permitindo que a colheita siga o fluxo normal. A colheita manual deve ser realizada com o auxílio de panos ou plásticos limpos, para que os frutos colhidos não tenham contacto com o chão, evitando-se assim a contaminação com fungos produtores de micotoxinas (ocratoxina A e aflatoxinas B₁ e B₂). Neste contexto, a operação de colheita assume uma grande importância na obtenção de um produto de qualidade superior, justificando-se a observação de aspetos tais como: a determinação da melhor época para o início da colheita, a duração, bem como o método de colheita adequado para a região e/ou para o tamanho da lavoura. As variações, de acordo com as diferentes regiões e com as condições climáticas, durante a fase de produção são consideradas. Normalmente, nesta operação obtém-se uma mistura de frutos em diferentes estádios de maturação, cor, teor de humidade e densidade [25], predominando os seguintes tipos: grãos verdes, café cereja (maduro), café passa, café boia, e café coquinho. O café cereja é o que proporciona o melhor tipo de bebida, desde que processado de forma adequada; do café verde resultará uma bebida de qualidade inferior, além de provocar quebra no rendimento, recomendando-se não mais de 5 % de café verde no total da colheita e tolerando-se no máximo 20 %. Frutos em passa estão mais sujeitos à penetração microbiana na polpa, originando-se assim diferentes tipos de fermentações, com reflexos negativos na qualidade da bebida. Estas observações tornam importante que haja predominância de café cereja no total, tendo em conta a relação custo / benefício, sendo por vezes recomendável que a colheita seja efetuada mais de uma vez [26-28]. O café boia é o café que atinge um grau de maturação completo no cafeeiro e apresenta esta denominação devido à flutuação aquando a separação hidráulica, a sua qualidade é inferior à do café cereja. O café coquinho é o café resultante dos ramos ponteiros dos cafeeiros de tamanho pequeno, passa pelo descascador e não é descascado devido ao seu tamanho. Este café é composto de impurezas (cascas do café) apresentando defeitos extrínsecos condicionantes na avaliação da qualidade do café.

2.2.3.3. Etapas pós-colheita

Até ao armazenamento as operações de pós-colheita do café envolvem diversas etapas, que são importantes para a preservação das características sensoriais e de segurança, não diferindo das

etapas da produção convencional. O café de varrição deve ser devidamente separado, e processado isoladamente. Após a colheita, o café é rapidamente transportado para o local de processamento, para minimizar a fermentação, que é obviamente mais intensa quanto maior for a humidade dos frutos. Após a receção dos grãos de café, é realizado o processo de limpeza para separação das impurezas. Este pode ser efetuado por crivagem manual, ventilação forçada ou com separadores de ar e crivos (i.e., máquinas de pré-limpeza).

Processamento

O processamento do café pode ser efetuado por via seca ou húmida [28]. A seleção do método decorre da quantidade produzida, dos recursos hídricos envolventes, da disponibilidade de mão-de-obra, da capitalização e da qualidade pretendida.

Processamento por Via húmida

O processamento por via húmida (figura 2.3) origina um café com melhor qualidade e mais caro, sendo usado frequentemente nos cafés arábica [29]. Este tipo de processamento consiste na fermentação rápida ou remoção da mucilagem, que promove o despulpamento removendo a casca dos frutos maduros por meio de um descascador mecânico e posterior lavagem dos grãos, eliminando-se a mucilagem. O despulpamento é uma prática comum entre os produtores do México, da Colômbia e do Quênia. É indicado para áreas onde o período pós-colheita ocorre sob condições de elevada humidade relativa no ar. Neste caso, a retirada da mucilagem, através da operação de despulpamento, reduz os riscos de desenvolvimento de microrganismos associados aos frutos, responsáveis por fermentações indesejáveis. As cerejas despulpadas são enviadas para o tanque de fermentação, onde ocorre a hidrólise da mucilagem que vai ser posteriormente eliminada na lavagem.

A fermentação pode ser efetuada num menor período de tempo, com recurso a enzimas pécicas comerciais ou naturais (obtidas do café fermentado). Este processo pode durar entre 4 a 72 horas, dependendo da técnica utilizada e considerando a temperatura, a espessura da camada em fermentação e a concentração de enzimas [30]. Em alternativa à fermentação, para a eliminação da mucilagem, existem outros métodos como os químicos, água quente de imersão e atrito; no entanto os métodos mais populares combinam a fermentação e o atrito. Após libertação da mucilagem a fermentação deve ser interrompida para evitar o aparecimento de grãos sobrefermentados, efetuando-se de imediato uma lavagem mecânica para eliminar o mesocarpo mucilaginoso e separar os grãos de café da polpa e de materiais estranhos. No final desta fase, o “café pergaminho” contendo entre 55 - 60 % de humidade é submetido ao processo de secagem até um teor de humidade de 15 %. Este tipo de café diminui consideravelmente a área de terreiro e o tempo necessário para secagem (um terço do tempo gasto em relação ao grão de café inteiro). Nas fases posteriores do processamento, reduz-se para cerca de 60 % o volume necessário de secadores e silos. Este tipo de processamento é o que propicia uma melhor qualidade aos grãos de café preservando as suas qualidades intrínsecas [31].



Figura 2.3 - Fluxograma geral do processamento das cerejas de café por via húmida para obtenção do café pergaminho.

Processamento por via seca

No processamento por via seca (figura 2.4), procedimento característico no café robusta e nos naturais brasileiros [32], após a colheita os grãos de café passam para a etapa de lavagem e separação das frações (cereja, verde e boia). Esta etapa é crucial e se não houver separação os cafés produzidos terão uma qualidade inferior na bebida. A colheita seletiva vai originar uma bebida de melhor qualidade [28]. Posteriormente são encaminhados para a secagem em terreiro ou para secadores artificiais. Este tipo de processamento pode ser antecedido por um descasque dos cafés cereja e verde, mantendo-se a mucilagem que envolve o grão. Os grãos descascados (i.e., "cereja" descascado) são então encaminhados para secagem. Após a remoção das impurezas (terra, pedras, folhas, etc.), o café passa pelo separador hidráulico, que promove a separação de acordo com o estágio de maturação dos frutos (pois estes apresentam diferentes densidades). A lavagem deve ocorrer no mesmo dia da colheita e o café lavado não deve ficar aglomerado, deve seguir imediatamente para o local de secagem. Na lavagem, ou separação hidráulica, a fração que submerge é composta por frutos maduros e de meia maturação, constituindo um café de valor superior comparativamente ao café que flutua, café boia. Os dois tipos de café (cerejas e boias) resultantes da separação hidráulica devem ser secos e armazenados separadamente. O "café coco" é o resultado deste tipo de processamento e será descascado noutra etapa.

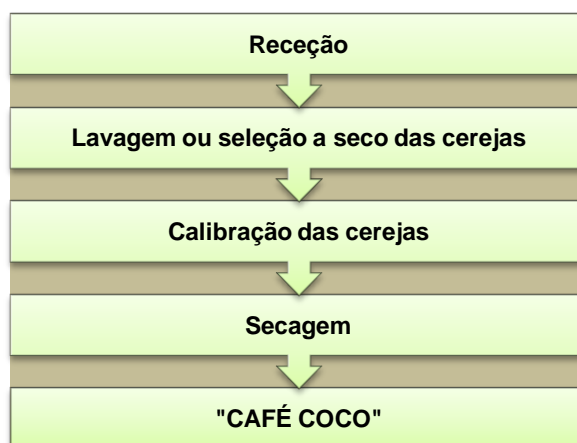


Figura 2.4 - Fluxograma geral do processamento das cerejas de café por via seca para obtenção do “café coco”.

Secagem

A secagem é uma operação de extrema importância, tanto no aspeto de segurança, como no de qualidade do café. A secagem do café, comparativamente a outros produtos, geralmente requer uma execução mais complexa. Além do elevado teor de açúcares presentes na mucilagem, os frutos normalmente apresentam teores de humidade inicial relativamente elevados. A secagem pode ser realizada em terreiros ou em secadores mecânicos. Poderá efetuar-se uma pré-secagem no terreiro, completando-se o processo com secadores mecânicos. O terreiro de secagem deve ser pavimentado para permitir maior facilidade nas operações de higienização. Os frutos devem ser revolidos várias vezes ao dia, recomendando-se 10 vezes, para acelerar o processo de secagem e evitar o surgimento de grãos com mofo e fermentados. O café não deve secar diretamente sobre o solo pois os esporos de fungos provenientes de outros lotes podem permanecer no solo e contaminar posteriormente os demais lotes. O terreiro para a secagem do café deve ter a superfície lisa e fácil de higienizar para que possam manter boas condições de higiene. A camada de grãos durante a secagem deve ser inferior a 4 cm e não deve permanecer por mais de 3 dias exposta no terreiro. Após o segundo dia de secagem, os frutos devem ser organizados em leiras de 15 - 20 cm de altura ao final da tarde, e novamente expostos no outro dia de manhã numa camada fina inferior a 4 cm. O café cereja só deve ser amontoado depois da “meia-seca”. A fase final da secagem no terreiro acontece quando o café atinge 15 - 20 % de humidade. Após a secagem o café deverá apresentar 11 - 12 % de humidade, o tempo total de permanência no terreiro pode variar entre 10 e 20 dias, dependendo do tipo de processamento, da região e das condições climáticas [33-35]. A secagem artificial é efetuada em secadores (permutadores de calor) que atingem uma temperatura que varia entre 45 - 60 °C e tem uma duração de 2 a 3 dias. A determinação prática da humidade dos grãos de café na fase final de secagem pode ser efetuada com base na observação da dureza e coloração dos grãos, ou pela relação volume / peso, pois 1 litro de café coco pesa aproximadamente 420 - 450 g. Refira-se contudo que uma maneira mais exata para determinação da humidade requer a utilização de equipamento laboratorial. De destacar que os níveis finais de humidade do café são críticos quanto aos aspetos de segurança e qualidade do produto. De facto, o café que permanece mais tempo ocupando mão-de-obra e espaço no terreiro, sofre maior perda de peso e quebra no benefício,

com valores acima de 12 % os grãos branqueiam mais rapidamente no armazenamento, e ocorre o risco de deterioração. Na fase de secagem existe ainda risco máximo de proliferação de fungos, *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium verrucosum*, produtores de ocratoxina A. A humidade dos grãos quando mantida na faixa 11-12 % impede o crescimento desses fungos. O café com um teor de humidade entre 8-12 % de humidade considera-se seco e é denominado por “café coco”.

Benefício

O benefício representa um conjunto de operações que visa a transformação do café coco e do café pergaminho em café verde comercial (figura 2.5). É efetuado, preferencialmente, pouco tempo antes da comercialização do produto, porque o café coco, quando armazenado adequadamente, tende a manter por muitos meses as suas características, nomeadamente a cor natural e o teor de humidade (que deve oscilar entre 11-12 %).

Para se obter 1 quilo de grãos beneficiados, são necessários 2 quilos de café coco. Quando o grão já passou pelo processo de despulpamento, essa proporção é diferenciada. Para cada quilograma de café beneficiado é necessário 1,75 kg de grão despulpado. O processo de benefício integra quatro etapas: pré-limpeza, remoção de pedras, descasque e classificação. Na primeira etapa ocorre a separação de impurezas do café, de seguida o catador de pedras separa o fruto das impurezas mais pesadas, na terceira etapa ocorre o descasque do café, onde a casca é removida pela própria máquina de benefício. Nesta fase o café fica apenas com a pele de prata, que poderá ser removida pela utilização de um polidor ou removida posteriormente com o processo de torra [32]. Na última etapa, os grãos são classificados pelo tamanho recorrendo a uma máquina com crivos. O processo de rebenefício poderá ser efetuado para melhorar a classificação comercial do produto. Esta operação utiliza igualmente crivos e para além do tamanho, a classificação é realizada também pelo peso, forma e cor dos grãos.

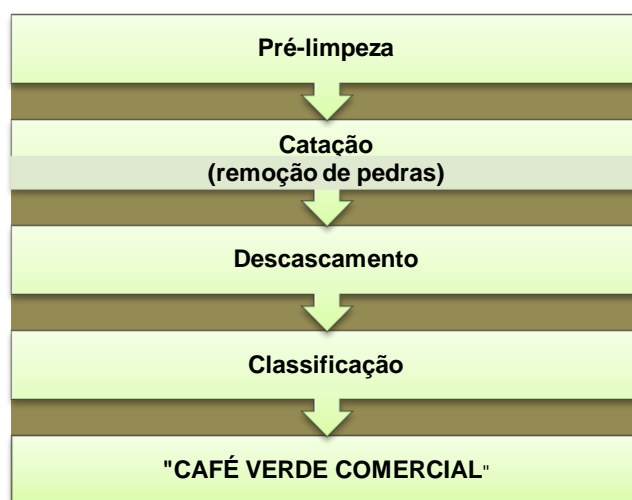


Figura 2.5 - Fluxograma geral do benefício do café para obtenção do café comercial.

O café comercial é armazenado com temperatura e humidade adequados para minimizar a atividade enzimática e o desenvolvimento de microrganismos. Pode ser armazenado em sacos de 60 kg, dispostos em armazéns de alvenaria, ou armazenado a granel em silos [36]. O armazenamento do

café é muito influente na qualidade da bebida, principalmente no que diz respeito à acidez. Cafés armazenados em ambientes com humidades relativas elevadas vão proporcionar um pH mais baixo [37].

2.2.4. Descrição do processo de industrialização do café

O café verde comercial é adquirido pela indústria da torra com base em especificações previamente estabelecidas entre o intermediário e o industrial. Exemplos dessas especificações são a espécie, país de origem, tipo de processamento, peso dos sacos, tamanho dos grãos, ano de colheita, humidade e quantidade de defeitos. A industrialização do café verde comercial está associada à indústria da torra, torrefação e moagem, à indústria do café solúvel e do café descafeinado. A composição de *blends* de café é considerada a etapa mais importante, porque requer um grande conhecimento do processo de formação ideal por parte do empreendedor ou do técnico especializado. O *blend* ideal é definido como sendo aquele que utiliza a mistura correta das espécies e variedades de grãos de café, para obtenção de um café moído com um padrão de cor e sabor que seja bem aceite pelos mercados. Adicionalmente, deve também levar-se em consideração que devido aos preços diferentes dos cafés robusta e arábica, a formação do *blend* será também preponderante na formação dos custos do produto final. As formulações poderão ocorrer antes ou depois da torra e normalmente são confidenciais.

O café robusta africano é tradicionalmente incorporado em *blends* de café, constituindo o componente dominante dos disponíveis na Bélgica, Luxemburgo, França, Reino Unido e Portugal, enquanto a maioria dos disponíveis na Escandinávia, Áustria, Suíça, Alemanha, Itália e Espanha têm incorporado uma maior proporção de café arábica [38].

2.2.4.1. Torra

A torra constitui uma etapa crucial no processamento do café, porque modifica a composição química, física e estrutural dos grãos de café verde, que vão interferir diretamente na humidade, massa específica, peso, cor e sabor do café, contribuindo para a definição das propriedades sensoriais [39]. A torra consiste num aquecimento dos grãos a uma temperatura que pode variar entre 160 - 250 °C, durante 0,75 - 25 minutos [40]. Numa primeira fase ocorre a evaporação da água, seguindo-se uma desnaturação das proteínas quando a temperatura ultrapassa 50 °C no grão. Posteriormente, quando os grãos atingem 100 °C, começam a escurecer com a decomposição térmica e com a pirólise dos compostos orgânicos. Quando os grãos atingem 150 °C, a estrutura celular é alterada, este aumenta de volume e simultaneamente libertam-se compostos voláteis. Por fim, quando os grãos atingem temperaturas superiores a 180 - 200 °C, surge o aroma característico do café torrado. Neste momento ocorre então uma rotura do endosperma que origina a decomposição, e promovem-se reações bioquímicas de polimerização e condensação, que vão resultar na formação de melanoidinas e compostos aromáticos, acompanhados pela libertação de fumos [41]. O café carameliza com o prolongamento da torra e ocorre a libertação do óleo de café, o "cafeol". Em quantidades industriais, o processo é cuidadosamente controlado (tempo / temperatura), mas em quantidades menores, só se pode contar com a capacidade técnica para avaliar a torra. O

grau de torra é geralmente monitorizado através das cores do café moído que varia do claro ao escuro [42]. A torra pode ser clara, média ou escura. Quanto mais escura for a torra, mais uniforme o sabor resultante. O grau de torra é condicionado pelo mercado, cliente, e / ou tipo de café, sendo alguns grãos mais apropriados para certos graus de torra. Um grão da Etiópia perde as suas características se for submetido a uma torra escura, mas alguns grãos mexicanos podem ser beneficiados com este tipo de torra. A qualidade e eficiência do processo de torra do café dependem de vários fatores, destacando-se a composição do gás, temperatura, pressão, tempo, velocidade relativa do grão e taxa de fluxo do gás. A torra do ponto de vista tecnológico consiste num fluxo forçado de ar quente produzido através de eletricidade ou através da queima de gás ou petróleo. O calor é transferido a partir do ar quente para o grão e, dependendo da técnica, poderá ser fornecido por convecção, condução ou radiação. Os torradores de tambor rotativo são os mais usados para torras industriais em *batch* (lote), ou em processos contínuos, e consistem na homogeneização dos grãos com ar quente dentro de um tambor giratório horizontal ou vertical fixo com pás. Utiliza-se um equipamento (i.e., um torrador) para efetuar a torra do café, mais ou menos compatível com a escala de mercado que se pretende produzir. Na seleção dos torradores, os parâmetros que afetam a transferência de calor para os grãos de café deverão ser tidos em conta, assim como o desenvolvimento de reações induzidas pelo calor da torra [43]. Obtém-se assim o “café torrado” que, segundo o artigo 4º do Decreto-lei nº 53 / 89 de 22 de Fevereiro, é “o produto obtido por torra de café verde, com a cor e o aroma próprios” e respeita as seguintes características: teor de corpos estranhos ao café em relação à matéria seca inferior a 0,5 %; teor de grãos defeituosos incluindo os partidos e os carbonizados inferior a 8 %; perda de massa por secagem inferior a 5 %; teor de cinza em relação à matéria seca inferior a 5 %; teor de cloretos na cinza expresso em cloro inferior a 1 %; extrato aquoso em relação à matéria seca inferior a 20 % nos arábicas e 30 % nos robustas, e teor de cafeína em relação à matéria seca superior a 1,2 % nos arábicas e 2 % nos robustas. Para além do café torrado, através de torra natural também existe o café torrefato submetido à torrefação, que segundo o Decreto-lei n.º 53/89, corresponde ao “café torrado em grão, adicionado de açúcares, melaço de cana ou extrato concentrado de alfarroba, durante o processo de torrefação, numa proporção que não ultrapasse 15 % (m/m) do café verde” e que respeita as características correspondentes ao café torrado, com exceção das seguintes: o extrato aquoso em relação à matéria seca inferior a 25 % nos arábicas e 35 % nos robustas, o teor de cafeína em relação à matéria seca superior a 1 % nos arábicas e 1,7 % nos robustas. A torrefação proporciona a caramelização dos açúcares com formação de uma película envolvendo os grãos de café. Esta prática pretende proteger os óleos essenciais do café e retardar o aparecimento do ranço, sendo realizada comumente em Espanha, embora venha sendo implementada noutros países, nomeadamente França, Costa Rica, Argentina e Portugal. Esta operação é muitas vezes utilizada para mascarar defeitos do café. Proporciona uma bebida de cor mais escura, mais amarga e mais cremosa, sendo utilizado em muitos *blends* para café expresso em percentagens que variam entre 5 - 70 %, de acordo com os hábitos de consumo de cada país. Seguidamente procede-se a um arrefecimento rápido para impedir que o café torre excessivamente ou perca aromas. A torra representa um fator preponderante na obtenção de um café torrado de elevada qualidade. Atualmente, para além das características

organoléticas que a bebida providencia, existe também a preocupação com a preservação dos compostos antioxidantes que são destruídos, preservados ou formados com esta operação. As condições de torra são particularmente relevantes para a atividade antioxidante do café, em detrimento do método de extração da bebida ou da origem dos respetivos grãos [40]. A torra ideal para a preservação dos antioxidantes tem sido discutida em diversos estudos, no entanto prevalecem conclusões contraditórias. Se alguns autores fundamentam que a atividade antioxidante aumenta com a torra [44, 45] outros refutam este postulado apontando a diminuição da capacidade antioxidante face ao aumento do grau de torra [46]. No entanto, a torra média tende a ser considerada ideal [47] devido ao equilíbrio entre a degradação de compostos fenólicos e a formação de produtos da reação de *Maillard* durante este processo [40]. As altas temperaturas durante a torra do café provocam uma redução do teor total de ácidos clorogénicos (CGA), de acordo com a intensidade das condições de torra [48]. A adição de sacarose na torrefação para obter o café torrefato também pode influenciar as propriedades antioxidantes e pró-oxidantes do café porque esse glícido é um precursor que pode promover a reação de *Maillard* [49].

2.2.4.2. Subproduto da torra - Pele de prata

A pele de prata do café (*coffee silverskin*) é o tegumento do grão de café, formado por uma camada de células esclerenquimatosas, que constitui um subproduto do processo de torra (figura 2.6). Tem o formato de uma película e define-se como tegumento seminal seco do grão de café com tonalidade prateada ou acobreada [50]. Esta película é constituída por uma camada de células remanescentes do tecido nucelar [51], denominada por perisperma, contém clorofilas *a* e *b* e, consoante a região de produção do café, pode adquirir uma coloração parda ou caramelo [28].

A pele de prata pode possuir, para além de cor esverdeada característica das clorofilas, carotenoides que estão relacionados com a sua cor avermelhada [52]. A sua aderência aos cotilédones faz com que não seja totalmente removida quando ocorre o polimento do café verde e a torra. Quando está ausente na ranhura dos grãos significa que os mesmos tiveram um processamento via seca. Acresce que quando removida totalmente dos grãos, desenvolve-se uma cor mais homogénea e deste modo ocorre uma valorização económica [53].

Nalgumas indústrias de torra do café portuguesas, a pele de prata é compactada juntamente com as impurezas do café formando *pellets*, para serem usados como fertilizantes na agricultura (figura 2.7).



Figura 2.6 - Pele de prata expelida do torrador.



Figura 2.7 - *Pellets* de pele de prata.

2.2.4.3. Moagem

A moagem é uma operação unitária que visa reduzir o tamanho das partículas. Representa o processo em que os grãos torrados ou torrefatos são triturados até se transformarem num pó fino designando-se o produto resultante “café torrado moído” ou “café torrefato moído” respetivamente, desde que mantenha as características e que a perda de massa por secagem não ultrapasse os 6 %. A moagem pode variar desde “muito fina” (turca) a “grossa” (moagem saco). Moagens mais finas dão origem a bebidas mais fortes, pois libertam sólidos solúveis mais eficazmente, mas envelhecem mais rapidamente devido a oxidações de compostos responsáveis pelo aroma do café. Esta etapa nem sempre é realizada na fábrica porque o café moído envelhece mais rapidamente, sendo mais suscetível à oxidação, provocando perda de aromas e mau sabor na bebida [54], sendo assim mais fácil armazenar grãos torrados que café moído. Esta etapa só deve ser realizada caso se pretenda colocar o produto no mercado devidamente embalado evitando-se assim a sua degradação.

Alguns equipamentos são integrados, isto é, realizam automaticamente as tarefas de moagem e embalagem. O café moído, ou em grão, poderá ser embalado a vácuo, em embalagens de polietileno, ou polipropileno biorientado, em unidades que poderão variar entre 250 g – 2 kg. Após enchimento com o peso determinado, esses sacos são fechados e selados por uma máquina. Para facilitar o armazenamento, assim como a distribuição das embalagens primárias, procede-se a um acondicionamento em caixas de cartão (embalagens secundárias) com uma capacidade média de 10 kg. Estas caixas de cartão são então guardadas na área de armazenamento da fábrica onde permanecem sobre uma *palette* (embalagem terciária) envolvida num filme de polietileno de baixa densidade. O produto devidamente embalado encontra-se então pronto para expedição.

2.2.4.4. Processamento terciário

As etapas correspondentes ao processamento terciário incluem a produção de café solúvel e de café descafeinado [55].

A produção do café descafeinado (figura 2.8) é realizada antes da torra dos grãos crus inteiros. Os métodos de descafeinação mais utilizados consistem na utilização de solventes para extração da cafeína, como diclorometano, clorofórmio, álcool, acetona, água entre outros [56]. Existem dois métodos básicos para a produção de café descafeinado usando solventes. O primeiro utiliza a extração direta dos grãos pelo solvente, o segundo, a água seguida do uso de um solvente para extração da cafeína. Uma das funções da água consiste na separação da cafeína associada ao ácido clorogénico e permitir que o solvente aceda à cafeína, além de facilitar a sua saída pela parede celular do grão. A extração da cafeína mediante somente recurso à água é um método natural e com crescente utilização.

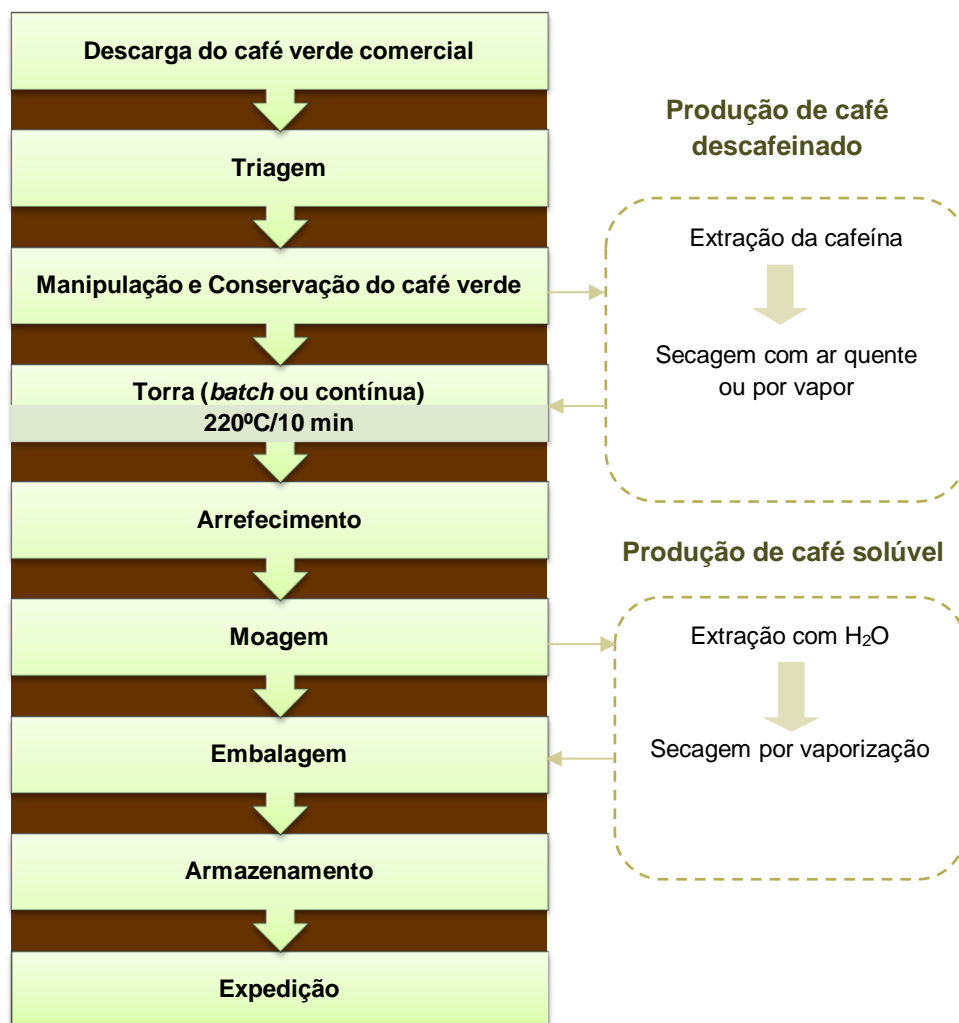


Figura 2.8 - Fluxograma geral da industrialização do café para obtenção do café torrado e moído embalado, café solúvel e café descafeinado.

A produção do café solúvel decorre da submissão de grãos torrados e moídos a uma percolação a pressão elevada (em percoladores ou colunas de extração) com água a temperaturas que variam entre 100 - 190 °C. A extração é realizada em contra corrente e, após a mesma, o extrato encontra-se a uma temperatura que oscila entre 95 - 105 °C, seguindo-se um arrefecimento rápido para minimizar a volatilização dos compostos aromáticos.

2.2.5. Qualidade do café

São inúmeros os fatores que afetam a qualidade do café. Das sementes de café até à bebida que chega ao consumidor, muitas são as etapas preponderantes para a qualidade da bebida. Desde a obtenção de um café verde com qualidade no país de origem, à otimização da torra e à extração eficiente da bebida, muitas são as condicionantes que determinam a qualidade. Também a composição química do café condiciona a qualidade do produto final. Todos esses parâmetros são analisados nos parágrafos seguintes.

2.2.5.1. Parâmetros que afetam a qualidade do café verde

A qualidade do café verde está largamente associada à respetiva composição química, constituindo um fator determinante na definição das características organoléticas. Contudo, são vários os fatores que influenciam a composição química do grão, desde a espécie, variedade, origem geográfica, tipo de solo, clima, nível de precipitação, altitude, práticas agrícolas e grau de maturação dos frutos quando colhidos [17]. Para além destes fatores, também o tipo de processamento (via húmida ou via seca), a secagem e o armazenamento influenciam a composição química. Comparando a composição química de grãos de café submetidos a tratamento por via húmida e via seca, verifica-se que os primeiros apresentam, em comparação com os segundos, uma redução do teor de glícidos livres (frutose e glucose), dos ácidos orgânicos (nomeadamente, quínico e oxálico) e dos minerais (com destaque para o potássio, cálcio, magnésio e cobre), um aumento dos lípidos, ácidos clorogénicos, trigonelina e polissacarídeos da parede celular, arabinogalactanas e mananas [57]. O processamento por via húmida poderá resultar numa bebida com um aroma e uma aceitação superior face à bebida resultante do processamento por via seca [58].

Os componentes do café variam consoante a origem geográfica. Uma abordagem metabolómica que foi aplicada a 21 amostras de café de diferentes origens, possibilitou a identificação com sucesso das origens do café, dividindo-se as amostras nas regiões da Ásia, América do Sul e África. Acresce que, a valorização das diferenças subtis, combinando dados de diversos instrumentos resultou na discriminação exata das origens do café [59].

2.2.5.1.1. Composição química do café verde

A análise química do grão verde pode ser utilizada como uma ferramenta adicional para a avaliação da sua qualidade [60]. Embora na sua constituição predomine glícidos, lípidos e proteínas [61], os componentes químicos que o distinguem são a cafeína, os ácidos clorogénicos e a trigonelina [32]. Note-se que, independentemente dos fatores que interferem na composição química dos grãos de café verde, existem teores médios determinados por diferentes autores.

Os maiores constituintes dos grãos de café são os glícidos, principalmente os polissacarídeos insolúveis (i.e., celulose e hemicelulose). Contêm também glícidos solúveis, monossacarídeos (frutose, glucose, galactose e arabinose), os oligossacarídeos sacarose (mais de 90%), rafinose e estaquiose e polímeros de galactose, manose, arabinose e glucose [62, 63].

Os ácidos não-voláteis alifáticos (com destaque para os cítrico, málico e quínico) e os ácidos voláteis também estão presentes (tais como acético, propanóico, butanóico, isovalérico, hexanóico e decanóico) [64].

Numa perspetiva quantitativa, os lípidos estão entre os componentes mais importantes que constituem os grãos de café e consistem na cera, matéria insaponificável e triglicéridos [65]. Os óleos e as ceras são responsáveis por 8 - 18 % da matéria seca. O teor de óleo na *Coffea arabica* e na *Coffea canephora* corresponde a cerca de 16,0 % e 10,1 %, respetivamente [66].

A fração lipídica de grãos de café verde é constituída por triglicerídeos, esteróis (estigmasterol, sitosterol), ácidos gordos (linoléico, linolénico, oléico, palmítico, esteárico, araquídico, lignocérico e beénico) representados os mais abundantes na tabela 2.1, diterpenos pentacíclicos (metilcafestol, cafestol, kahweol) [67], álcoois diterpénicos, ésteres diterpénicos e triterpénicos e ceramida. Os tocoferóis (*alfa*, *beta* e *gama*) também estão presentes juntamente com os tocotrienóis [68]. Os diterpenos correspondem a mais de 20 % dos lípidos totais [69].

Tabela 2.1 - Principais ácidos gordos que constituem o grão de café nalguns genótipos.

(%)	Ácido linoleico	Ácido palmítico	Ácido oleico	Ácido esteárico	Ácido linolénico	Ácido araquídico	Referências
Grãos de café verde	41,2–42,6	35,2–36,7	9,5–11,9	7,2–9,7	1,3–2,7	0,3–1,5	[70]
<i>C. arabica</i>	44	34	9	7	1,5	3	[71]
Várias espécies	45,2	33,4	8,9	7,0	1,7	2,2	[72]
<i>C. canephora</i>	44,0	31,3	12,5	5,9	1,5	2,4	[73]
<i>C. arabica</i>	46,3	30,2	10,6	8,0	1,6	2,3	[73]

As proteínas e os aminoácidos livres representam 9 - 12 % da matéria seca. O teor de proteína inclui aminoácidos livres, principalmente asparagina, ácido glutâmico, alanina, ácido aspártico e lisina [62]. Os minerais variam entre 3 - 5 % da matéria seca, com destaque para o potássio, magnésio, fósforo, cálcio, o ferro, cobre, manganês e zinco [74]. O café também contém várias espécies de xantinas, como a cafeína [75], teobromina e teofilina [76]. A cafeína é o principal alcalóide nos grãos de café, representando 1 - 4 % (matéria seca) e apresenta uma diferença significativa entre as cultivares [77]. Outros compostos incluem ainda a trigonelina e o ácido nicotínico [64].

Os compostos fenólicos mais abundantes nos grãos de café verde são os ácidos clorogénicos (CGA), cujo teor pode corresponder a 14 % em matéria seca [78]. No cafeeiro a respetiva síntese decorre de uma esterificação dos ácidos trans-cinâmicos (principalmente o cafeico, o ferúlico e o p-cumárico) com o grupo hidroxilo do ácido quínico. Os CGAs mais abundantes no café são o ácido cafeico, incluindo 5-O-cafeoilquínico (5-CQA) e seus isómeros 3-CQA e 4-CQA. Além disso, os isómeros dicafeoilquínicos (3,4-diCQA, 3,5-diCQA e 4,5-diCQA), feruloilquínicos (3-FQA, 4-FQA e 5-FQA), ácidos diferuloilquínicos (diFQA) e ácidos p-cumaroilquínicos (3-p-CoQA, 4-p-CoQA e 5-p-CoQA) também ocorrem em grãos de café verde [78, 79]. O ácido 5-O-cafeoilquínico é o mais abundante. Os ácidos feruloilquínico e di-cafeoilquínico também podem ocorrer conjugados com tirosina, triptofano

ou fenilalanina (cinamoil-amidas consoante a origem geográfica). As proantocianidinas também estão presentes no café [80, 81].

A tabela 2.2 apresenta a composição química aproximada em matéria seca dos cafés arábica e robusta verdes.

Tabela 2.2 - Composição química aproximada em matéria seca dos cafés arábica e robusta verdes com adaptações.

Componentes*	Arábica	Robusta
Glícidos ^a	53,7	50,7
Sacarose ^a	8	4
Açúcares redutores ^a	0,1	0,4
Lípidos totais ^a	15,2	9,4
Proteína ^a	11,1	11,8
Aminoácidos livres ^b	0,5	0,8
Cafeína ^a	1,3	2,3
Trigonelina ^a	0,8	0,7
Minerais ^a	3,9	4,4
Ácidos clorogénicos totais ^a	8,1	9,9
Ácidos alifáticos ^b	1	1
Ácido quínico ^b	0,4	0,4
Lenhina ^b	3	3
Pectina ^b	2	2

* Valores expressos em % de matéria seca a) [61] e b) [32].

2.2.5.2. Parâmetros que afetam a qualidade do café torrado

A concentração de algumas das substâncias benéficas para a saúde depende do tratamento térmico durante a torra do café. As torras com temperaturas e intensidades elevadas reduzem o teor de CGA total. A presença de grãos de café defeituosos (pretos, verdes, ardidos) deprecia a qualidade da bebida. O sabor do café está diretamente relacionado com os compostos voláteis produzidos durante a torra, sendo um terço compostos aromáticos. Neste contexto, a análise do perfil de voláteis, realizada por GC-MS, permite identificar substâncias que poderão ser possíveis marcadores químicos de diferenciação na deteção de grãos de café defeituosos em café torrado [82].

2.2.5.2.1. Composição química do café torrado

A composição química do café torrado decorre de uma sucessão de reações químicas que ocorrem durante a torrefação [83]. Por exemplo, os polissacarídeos são degradados durante a torra em glícidos de baixo peso molecular [63].

As amostras torradas de café arábica e robusta usualmente apresentam uma perda de sacarose de 97 % para a torra clara e 99 % para a torra média. Com torras mais agressivas, a sacarose é completamente degradada. As reações de pirólise que ocorrem são catalisadas por alguns elementos minerais, eventualmente na forma iónica, presentes no café [54]. Estão presentes no café arábica e

robusta torrados, os macrominerais fósforo, magnésio e cálcio em concentrações superiores e o sódio e o potássio em concentrações inferiores, a par dos microminerais manganês, ferro e cobre.

Os compostos que podem detetar-se no óleo extraído do café torrado são equiparáveis aos do grão verde, não se verificando efeitos significativos com o processo de torra. No entanto, durante a torra acumulam-se 850 compostos voláteis sendo 40 responsáveis pelo sabor e aroma do café torrado [84].

Os CGAs também contribuem para as propriedades antioxidantes do café torrado [85, 86]. As transformações químicas que ocorrem para a formação de CGA não estão completamente esclarecidas. No entanto, ocorre a formação de latonas a partir do ácido clorogénico como consequência da pirólise com um impacto relevante no café [87]. As principais latonas que se formam no café torrado são as cinamoil-1,5-c-quinolatonas, sendo produzidas através da perda de uma molécula de água e a formação de uma ligação éster intramolecular entre as posições 1 e 5 do ácido quínico [87] .

Com a torra formam-se as melanoidinas, que são compostos de alto peso molecular, que resultam da combinação de glícidos e aminoácidos através de reações de *Maillard* ou caramelização de glícidos. Há também evidências de que os CGAs, o ácido cafeico e quínico, são incorporados na formação de melanoidinas para além de outros compostos [78, 88]. Existe uma sobreposição metodológica e conceptual entre melanoidinas e fibra dietética do café. Se por um lado as melanoidinas rapidamente aumentam de 5,6 mg / 100mg (torra clara) para 29,1 mg / 100 mg (torra escura) da matéria seca solúvel, a fibra dietética solúvel aumenta de 39,4 mg / 100 mg no café verde para 64,9 mg / 100 mg da matéria seca solúvel em condições de torra escura. Os métodos colorimétricos podem superestimar até 21 %, o conteúdo de melanoidinas. No entanto, a sua contribuição é variável e muito provavelmente depende do método de secagem aplicado ao café verde. Neste contexto, a fibra dietética solúvel transforma-se progressivamente numa estrutura derivada das reações de *Maillard*, que aumenta entre 11 - 45 %, de acordo com as condições de torra. Conclui-se assim que o conteúdo de melanoidinas do café inclui uma parte substancial de fibra alimentar e também que a fibra dietética do café incorpora melanoidinas. Esta abordagem conceptual sugere portanto uma nova definição de melanoidinas do café como um tipo de fibra dietética derivada da reação de *Maillard* [89]. A tabela 2.3 apresenta a composição química do café torrado.

Tabela 2.3 - Composição química do café torrado (torra média) [22].

Componentes ^a	Arábica	Robusta
Glúcidos	38,0	41,5
Lípidos totais	17,0	11,0
Proteína ^b	10,0	10,0
Cafeína	1,3	2,4
Trigonelina	1,0	0,7
Minerais	4,5	4,7
Ácidos clorogénicos totais	2,7	3,1
Ácidos alifáticos	2,4	2,5
Melanoidinas ^c	23,0	23,0

a - baseada no teor de sólidos com variações no teor de humidade entre 1 e 5 %; b – calculada a partir da hidrólise ácida dos aminoácidos; c – cálculo da diferença.

2.2.6. Adição de ingredientes na aromatização do café

A utilização de plantas medicinais parece contribuir para a prevenção e tratamento de várias doenças e, paralelamente, as especiarias são conhecidas por proporcionar a adição de sabor, aroma, e cor aos alimentos [90].

A aromatização iniciou-se no Oriente, onde as especiarias eram adicionadas ao café conferindo-lhe um gosto e aroma mais intenso. As especiarias mais populares eram a canela, o cardamomo, o gengibre e a baunilha [91]. Neste contexto destacava-se a *Elettaria cardamomum* (cardamomo) que é ainda uma das especiarias utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de várias doenças, incluindo distúrbios gastrointestinais, cardiovasculares e neuronais [90]. Acresce ainda que a sua utilização na aromatização do café representa um símbolo da hospitalidade árabe [90].

O leite é o ingrediente que tem obtido, ao longo dos tempos, maior popularidade na combinação com o café, tendo originado diversas bebidas, nomeadamente o café com leite (galão, meia de leite e pingo), o *cappuccino*, o *machiato* e o *mocacino*. Na Alemanha é usualmente servido com leite condensado ou *chantilly*, na Áustria é tradicionalmente servido com *chantilly* e acompanhado com bolos; na Bélgica é consumido com um pedaço de chocolate no interior da chávena; na França é preparado numa mistura com chicória; na Itália é servido em chávenas tipo *expresso* juntamente com tiras de limão e na Suíça é servido com a adição de licor (nomeadamente o *Kirsch*). Outros hábitos referentes a diversas culturas fazem com que o café tenha uma história em cada cultura e seja ingerido de maneiras muito distintas. De facto, na Grécia é acompanhado com um copo de água gelada e em Cuba é bebido num só gole e preparado de modo a que fique forte e doce, enquanto no México é servido muito diluído e com pouco sabor [91].

Diferentes ingredientes transmitem sabores diferenciados na bebida, como o sabor de licor, chocolate, frutas, nozes, assim como os temperos picantes das especiarias e ervas aromáticas. Saliente-se contudo que a aromatização do café não é apreciada globalmente, principalmente quando são adicionadas especiarias incompatíveis, como o alho ou a pimenta.

2.2.7. Extração da bebida de café

A qualidade da bebida final está dependente de fatores indiretos (e que são os mesmos referidos anteriormente para o café torrado) e diretos. Os fatores diretos não dependem do café torrado, mas do grau de moagem, tempo de extração, qualidade [92] e temperatura da água [93], assim como da quantidade de café e do volume de água utilizados na preparação da bebida [94].

Desde o café turco (preparado no *ibrik* onde uma mistura de açúcar e café moído, submetido a uma moagem muito fina e água são fervidos, resultando numa bebida de consistência densa, doce, perfumada e com corpo) até às bebidas extraídas nas mais sofisticadas máquinas de café expresso, várias são as bebidas de café que se poderão preparar. A mais popular em Portugal é o café expresso.

O café expresso resulta da extração do gás e compostos ativos do café torrado e moído, submetido a percolação em água fervente, a uma temperatura entre 88 e 94 °C, e a uma pressão de 9 atmosferas [95].

O café expresso apresenta dois tipos de substâncias solúveis e emulsionáveis. A classe solúvel inclui compostos voláteis, tais como pirazinas, aldeídos, cetonas, que são responsáveis pelo aroma, e substâncias não voláteis, tais como a cafeína, açúcar, responsáveis pelo sabor [83], enquanto os compostos emulsionáveis incluem proteínas, lípidos, polissacarídeos e melanoidinas que afetam o corpo e o creme da bebida [96, 97]. Além disso, a presença do creme no topo da bebida é uma característica típica do café expresso ausente de outras preparações de bebidas à base de café. Para obter uma extração adequada de todas estas substâncias, para preparação de uma chávena de café expresso de qualidade, é importante que o processo de percolação de água através das partículas do café moído seja realizado a uma temperatura específica. Os cafés extraídos de um 100 % arábica e de um *blend* (80 % arábica e 20 % robusta) a 100 °C e 110 °C revelaram um perfil sensorial típico para um café expresso, caracterizado por baixo amargor e adstringência, e uma textura condensada ótima do creme e corpo [98].

A extração da bebida, uma moagem fina, a quantidade de café que é inserida no porta-filtros (7 g) e a compactação do mesmo são preponderantes para a obtenção de um café expresso de qualidade, com o creme desejável para este tipo de bebida. No entanto, de acordo com estudos recentes [99], o teor de dióxido de carbono parece ser o principal responsável pela formação otimizada do creme na bebida de café expresso. Os iões de bicarbonato presentes na água utilizada na industrialização também parecem favorecer o creme na bebida. Uma definição sugerida para o café expresso no âmbito desta revelação é uma preparação rápida de transferência de dióxido de carbono a partir de café torrado e moído para uma chávena por meio de água quente sob pressão. Verifica-se assim que um café expresso com um creme perfeito é condicionado pelo dióxido de carbono formado na torra / torrefação, permanência no grão ou no café moído quando o café é embalado, a solubilidade na água e a libertação do mesmo para a bebida [99].

Os extratos de café robusta parecem possuir maior eficácia antioxidante do que os realizados com grãos de café arábica e que o método mais eficiente para a extração de antioxidantes dos grãos de

café moídos é o que recorre a água fervente sob pressão elevada, portanto o equiparável ao café expresso [100].

2.2.8. Marketing e aceitação do alimento funcional

A prévia definição da objetividade com que as vantagens e os benefícios do produto são evidenciados em relação aos produtos concorrentes representa um ponto fulcral para o sucesso do mesmo junto dos consumidores. As características intrínsecas de um alimento funcional encontram-se representadas em quatro categorias: a fórmula do produto (ingredientes, processamento e descrição técnica), a *performance* (características observáveis pelo consumidor e outras não visíveis que visem proporcionar efeitos benéficos para a saúde do consumidor), o aspeto visual exterior como o *design* da embalagem e as alegações de saúde avaliadas previamente pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA).

2.2.8.1. Análise sensorial e qualidade dos cafés

A análise sensorial, ou avaliação sensorial, é uma área científica que pretende evocar, medir, analisar e interpretar as reações às características dos alimentos, tal como são percebidas pelos sentidos (visão, olfato, paladar, audição e tato). Os alimentos ao serem percecionados poderão provocar dois tipos de reação sensorial, a reação hedónica e a avaliação objetiva. A reação hedónica pode ser obtida através dos testes ao consumidor e pretende identificar o produto preferido ou com maior aceitação. A avaliação objetiva é realizada por provadores treinados, mediante realização de provas de análise sensorial, com o intuito de descrever e comparar características dos produtos.

Na indústria alimentar, a análise sensorial pode considerar-se determinante para o sucesso dos produtos alimentares, sendo ainda preponderante no desenvolvimento de novos produtos e na manutenção ou melhoria da qualidade daqueles já existentes no mercado. Permite comparar os produtos de uma determinada empresa com os da concorrência, compreender como o processo e / ou a receita influenciam a qualidade sensorial do produto e adaptar melhor os produtos desenvolvidos ao gosto do consumidor, combinando a análise sensorial com o teste de consumidor. A qualidade consistente do produto é essencial para uma associação positiva do mesmo, traduzida em reconhecimento, valor e confiabilidade por parte do consumidor e inculcando neste a lealdade à marca. As análises instrumentais mais precisas (língua e nariz eletrónico) não conseguem diferenciar um café sem defeitos, mas corrente, de um café de qualidade superior ou de um café *gourmet*. De facto, os olhos, nariz e boca continuam a ser os juízes finais da qualidade de um café. No entanto um estudo realizado na Colômbia concluiu que o nariz eletrónico pode ser uma ferramenta útil para o controle de qualidade da indústria cafeeira, mais especificamente para a deteção e classificação de defeitos, atualmente efetuada através de “prova de chávana” [101].

A avaliação sensorial define-se como uma medida que pretende avaliar o que o sujeito perceciona no produto, um teste é projetado para medir essa percepção, que consiste na aferição da resposta a estímulos físicos e conceptuais. As respostas às medidas estão relacionadas com a percepção que o sujeito tem do produto e com a atitude do sujeito em relação ao produto. Os resultados obtidos com o

painel de consumidores são então objeto de generalização (após tratamento estatístico) para a população. A “prova de chávana” é um dos testes de análise sensorial muito utilizado no controlo de qualidade na indústria e incluem a avaliação das características de corpo, bebida, acidez, amargor, doçura, aroma, adstringência e qualidade global e mais recentemente sabor, sabor residual e uniformidade entre chávanas, com descrição detalhada das limitações de cada item, que permitem caracterizar detalhadamente o produto.

2.2.8.2. Comportamento do consumidor e provas hedónicas

A aceitabilidade do produto pelo consumidor pode considerar-se fator preponderante para a implementação de um produto no mercado e respetiva comercialização. O conhecimento das características requeridas pelos consumidores representa uma das aplicações mais importantes da Análise Sensorial no desenvolvimento de novos produtos e no *Marketing*. Surgem assim as provas hedónicas, também conhecidas por testes de consumidores ou provas afetivas, que traduzem uma reação subjetiva em relação a determinado produto por parte do provador ou consumidor. A reação subjetiva é caracterizada pela preferência e / ou aceitabilidade do consumidor face aos produtos a testar. Este tipo de provas apresenta uma variabilidade extensa e cujos resultados são mais difíceis de interpretar, uma vez que traduzem opiniões pessoais e não de um determinado grupo ou sociedade. Este tipo de provas pode ser subdividido em provas de preferência, provas de medição do grau de satisfação ou provas de aceitação. Estes testes são preponderantes para verificar se o produto vai ter aceitação por parte dos consumidores, quer pela sua qualidade, características organolépticas, modificações nos produtos (aumentar a competitividade, otimizar processos, formulações, modificar embalagens, verificar condições de armazenamento e tempos de conservação) ou na investigação e desenvolvimento de novos produtos. A aceitação do produto por parte do consumidor pressupõe diferentes variáveis, com destaque para as características do indivíduo (sexo, idade, habilitações literárias), localização geográfica, hábitos e costumes.

Algumas metodologias são propostas para a realização dos testes. O método de escala hedónica consiste na avaliação por consumidores que expressam a sua aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida com base num nível de aceitação que pode variar numa escala entre 5 e 9 pontos, representando situações que oscilam entre o menos apreciável e o mais apreciável [102].

As provas hedónicas não exigem provadores treinados, podem ser testadas até 4 amostras em cada prova, o tempo de avaliação da amostra é mais curto e os procedimentos mais fáceis de corresponder.

2.2.9. Sistemas de gestão da qualidade e segurança alimentar

O programa de pré-requisitos do café é, numa fase inicial de produção primária, baseado em boas práticas agrícolas (BPA). Focaliza-se posteriormente nos Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e nas Boas Práticas de Fabrico (BPF). Estes aspetos são imprescindíveis para o sucesso da implementação de um Sistema de Gestão da Segurança Alimentar.

O Sistema HACCP consiste na definição dos perigos associados ao produto em toda a sua cadeia produtiva, incluindo as etapas de produção primária, como a seleção de sementes ou de variedades, plantação, colheita e benefício, e no processamento / industrialização, comercialização, e preparação da bebida. Após a realização da análise de perigos, as etapas cujo controlo é crítico são caracterizadas para estabelecer medidas preventivas que visam prevenir, minimizar ou eliminar o perigo (ou perigos) identificado(s). Seguidamente, devem-se estabelecer os procedimentos para monitorizar o limite crítico e as ações corretivas, quando ocorrerem desvios. O Sistema HACCP proporciona um enfoque mais específico para o controlo de perigos do que o conseguido pelos procedimentos tradicionais da inspeção e controlo de qualidade.

Para o caso específico do café, que se apresenta como um produto de baixo risco, um fluxograma é executado e ajustado a cada tipo de processo de benefício, processamento e transporte, indicando os principais perigos e pontos críticos de controlo para cada situação. Caso ocorra alguma alteração no fluxograma do processo, este deverá ser revisto (bem como o próprio sistema HACCP).

O Sistema HACCP tem carácter preventivo, sendo todas as etapas da cadeia produtiva analisadas e, nas consideradas críticas, aplicadas medidas de controlo. A implementação deste sistema traz benefícios à indústria do café, porque pode conferir um controlo preventivo às operações de cultivo, colheita e pós-colheita, armazenamento, transporte e comercialização. O controlo de pontos críticos deve ser considerado, a par da sistematização e documentação das medidas de controlo dos pontos críticos, para garantir a produção de café e derivados salubres, oferecendo assim a oportunidade de incrementar a produtividade e a competitividade.

2.2.9.1. Perigos associados à produção de café

Os perigos químicos são os mais prevaletentes, nomeadamente a Ocratoxina A (OTA). Os resíduos de produtos fitofarmacêuticos (fungicidas, herbicidas ou inseticidas) e os perigos físicos como paus, folhas, pedras ou metais também são considerados na análise de perigos exemplificada na tabela 2.4.

Tabela 2.4 - Análise dos perigos e descrição das medidas preventivas [26]

Etapas	Natureza do perigo	Descrição do perigo	Causas	Medidas preventivas
Cultivo	Químico	Presença de resíduos de produtos fitofarmacêuticos.	Não cumprimento do período de carência; uso excessivo ou inadequado.	Boas práticas agrícolas; Cumprimento dos procedimentos de aplicação e dosagem bem como as instruções de uso do fabricante.
Colheita	Químico	Presença de OTA.	Colheita de frutos deteriorados, danificados e/ou num estágio de maturação avançado que promovem o desenvolvimento de fungos produtores de OTA.	Boas práticas agrícolas; Cumprimento dos procedimentos de controlo de pragas; Realização da colheita no estágio de maturação ideal com predominância do café cereja; formação dos operadores responsáveis pela colheita dos frutos; planeamento eficaz da colheita considerando o estágio de maturação uniforme do fruto.
	Físico	Presença de folhas, pedras e/ou paus.	Colheita efetuada pelo processo de derrça.	Boas práticas agrícolas; formação dos operadores, manutenção das peneiras em bom estado de conservação.
Lavagem (separação)	Químico	Presença de OTA	A possibilidade de presença de OTA no café boia.	Realização de separação efetiva do café boia, do verde e cereja, até ao final do processo. Formação dos operadores.
Secagem	Químico	Presença de OTA.	Contaminação e / ou multiplicação do fungo produtor.	BPA: Instalações do terreiro, plano de higienização, procedimentos de secagem otimizada do café no terreiro. Garantia de processo de secagem rápido e uniforme até atingir o nível de humidade máxima de 13%.
Armazenamento	Físico	Presença de insetos e / ou roedores e seus excrementos.	Falhas no programa de controlo integrado de pragas, permitindo proliferação de pragas.	BPA; Monitorização e Verificação do plano de controlo de pragas, Higienização das instalações.

2.2.9.2. Ocratoxina A

A ocratoxina A pertence ao grupo das 500 micotoxinas que já foram isoladas e ao grupo das 20 que constituem maior risco para a saúde pública. Estas micotoxinas são definidas como metabolitos secundários sintetizados por fungos filamentosos [103], substâncias biologicamente ativas com efeitos anti-predatórios e pró-territoriais que permanecem nos solos e nas culturas. Estes fungos encontram-se nas mais diversas regiões do mundo e podem crescer em diferentes substratos e com diferentes temperaturas, graus de humidade e pH.

A invasão dos fungos em produtos agroalimentares, e por conseguinte a sua contaminação com micotoxinas, inicia-se caso ocorra uma produção primária indevida, destacando-se: não cumprimento de boas práticas agrícolas; um transporte e armazenamento inadequados; um processamento ineficaz. A OTA integra um composto cristalino incolor, que de acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC*) possui a seguinte nomenclatura L-phenylalanine-N-[(5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1*H*-2-benzopyran-7-yl)carbonyl]-(*R*)-isocoumarin, uma porção de derivados de dihidro-isocumarina ligada a um grupo L-fenilalanina por uma ligação peptídica. Esta micotoxina foi isolada e caracterizada a partir do fungo *Aspergillus ochraceus*, após a verificação da morte de animais experimentais que ingeriram milho contaminado com estirpes deste fungo [104]. Mais tarde foi detetada como metabolito de diferentes espécies do género *Aspergillus* e *Penicillium*.

Fungos produtores de ocratoxina A

O crescimento e desenvolvimento de fungos micotoxigénicos e, por sua vez, a produção de micotoxinas está diretamente relacionada com determinados fatores como a atividade da água (a_w) do substrato, presença de micronutrientes, presença de cisteína, temperatura e danos físicos no alimento. A a_w e a temperatura ótima de crescimento dos fungos produtores de OTA podem variar consoante a espécie. Os fungos que produzem esta micotoxina correspondem a diversas espécies pertencentes aos géneros *Penicillium* e *Aspergillus*. As espécies mais relevantes de contaminação são o *P. nordicum*, o *P. verrucosum*, o *A. alliaceus*, o *A. carbonarius*, o *A. niger*, o *A. ochraceus*, o *A. steynii* e o *A. westerdijkiae* [105]. No entanto, existem diversas estirpes destas espécies que não são produtoras de OTA. As espécies de fungos referidas anteriormente crescem em alguns produtos agroalimentares deixando nos mesmos os metabolitos de OTA produzidos. Para cada tipo de produto agroalimentar existem espécies ocratoxigénicas características pela contaminação dos mesmos.

A incidência de OTA representa um perigo a ter em consideração em determinados produtos agroalimentares: trigo, cevada, milho, centeio, aveia, café, vinho, cerveja, cacau, alimentos infantis, alimentos compostos para animais, figos, carne, sangue e rins de suínos e outros produtos de origem animal [106]. Na tabela 2.5 apresentam-se níveis de contaminação com OTA em alguns alimentos, desde o ano 2000 como grãos de café verde provenientes de África, América e Ásia, especiarias da Índia, cacau e frutos secos de diferentes origens, figos secos da Turquia, feijão de 3 municípios da Croácia e arroz proveniente de Espanha.

Tabela 2.5 - Ocratoxina A em produtos agroalimentares (desde 2000 até à atualidade).

Produto agroalimentar	Nível de contaminante (µg/kg)	Referência
Grãos de café verde	0-48	[107]
Especiarias	4,2-103,2	[108]
Grãos de cacau	0,35-14,8	[109]
Frutos secos	0,1-30	[110]
Figos secos	<0,1-35,1	[111]
Feijão	0,25-0,92	[112]
Arroz	1,0-27,3	[113]

A ocorrência de micotoxinas na agricultura depende das condições sob as quais a cultura em particular cresceu, foi colhida ou armazenada. As micotoxinas são estáveis na maioria das condições de processamento do alimento (com exceção de produtos refinados, nomeadamente óleos) e, desta forma, poderá persistir no produto final. Portanto, é impossível eliminá-las completamente do alimento contaminado.

Processamento dos produtos e sua influência na redução de OTA

As diversas formas de torra do café vão influenciar os níveis de OTA no produto final (tabela 2.6). A OTA é estável à carga térmica que usualmente se utiliza na culinária comum. Um estudo efetuado por Boudra *et al.* [114] demonstrou que a OTA é estável a temperaturas elevadas e, adicionalmente, constatou-se ainda que apenas até 20 % da OTA do trigo foi decomposta a 100 °C (durante 160 minutos) ou 150 °C (durante 32 minutos). Note-se contudo que, devido às temperaturas elevadas que se utilizam na torra do café uma maior percentagem de destruição tem sido observada [114], muito embora, resultados contraditórios também tenham sido descritos em vários estudos. De facto, alguns autores como Tsubouchi *et al.* [115] e Studer-Rohr *et al.* [115, 116] demonstraram que em grãos de café verde, artificialmente contaminados, os níveis de OTA só foram ligeiramente reduzidos (0 - 12 %) com um tratamento térmico a 200 °C, durante 10 - 20 minutos, e que a quase totalidade da toxina foi infundida na decocção de café torrado quando as amostras foram moídas e extraídas com água a ferver; outros autores [117, 118], por oposição, indicaram que até 80% da OTA foi destruída durante a torra industrial, devido à destruição térmica e remoção da pele de prata. Também se demonstrou que o café submetido a uma torra num torrador em leito fluidizado reduz significativamente o nível de OTA de 8 % para 98 %, a uma temperatura de 240 °C, durante 12 minutos, em amostras artificialmente contaminadas com esporos do fungo *Aspergillus westerdijkiae* [119]. Um estudo recente [120] comprovou que a torra efetuada com um cilindro rotativo apresentou melhores resultados na destruição de ocratoxina A em grãos de café verde artificialmente contaminados, quando comparado com torradores em leito fluidizado.

Tabela 2.6 - Influência da torra na redução de ocratoxina A.

Tipo de processamento	Redução da contaminação (%)	Referência
Torra clara do café	35 %	[121]
Torra média do café	71 %	[121]
Torra escura do café	98 %	[119]

Toxicidade da ocratoxina A

Do ponto de vista da segurança alimentar, a elevada toxicidade da OTA requer uma atenção elevada. No ser humano a toxicidade induzida pelas micotoxinas está dependente da dose ingerida, do tempo de exposição, da espécie em causa, da idade, do sexo, do estado fisiológico ou de eventuais sinergias entre diversas micotoxinas que possam estar nos alimentos.

A OTA confere efeitos nocivos (carcinogénicos, genotóxicos, mutagénicos, citotóxicos, neurotóxicos, hepatotóxicos, nefrotóxicos e imunossupressores) e, como pode atravessar a placenta, também é embriotóxica e teratogénica. A sua toxicidade foi avaliada pela *International Agency for Research on Cancer* [122], que a classificou como um potencial cancerígeno para o homem. Os rins são considerados o principal órgão alvo, é nefrotóxica e está implicada na nefrotoxicidade endémica em humanos e tumores uroteliais na região dos Balcãs, na nefropatia intersticial crónica nos países do norte de África, bem como na nefrotoxicidade em suínos e na maioria dos animais testados em laboratório [123]. A OTA é metabolizada em ocratoxina α , ou noutros metabolitos derivados, sendo posteriormente excretada através da urina e das fezes, no entanto é considerada um composto tóxico cumulativo, de fácil absorção e de eliminação lenta. Os efeitos tóxicos são produzidos por mecanismos porventura controversos. No que diz respeito à sua carcinogenicidade, considera-se que a sua toxicidade poderá advir da capacidade de ligação e interação com macromoléculas, formando espécies reativas, inibindo a respiração mitocondrial e formando adutos com o ácido desoxirribonucleico (DNA). Possui também capacidade para destabilizar a membrana celular porque pode associar-se a iões Fe^{3+} e produzir um complexo $\text{OTA} - \text{Fe}^{2+}$, que por sua vez origina radicais hidroxilos reativos que promovem a peroxidação dos lípidos das membranas e o aumento da permeabilidade iónica [124]. Apesar do mecanismo de genotoxicidade não estar devidamente esclarecido existem evidências que comprovam que é genotóxica *in vitro* e *in vivo*, pois após a respetiva biotransformação os seus análogos podem formar adutos com o DNA [125].

A exposição humana à OTA pode ainda contaminar o leite materno quando ocorre a ingestão de produtos alimentares contaminados. Por conseguinte, deverá ter um controlo rigoroso de modo a que os níveis desta micotoxina sejam reduzidas para os níveis mínimos viáveis. De acordo com o *Scientific Committee on Food*, a OTA não deve ser ingerida em quantidades superiores a 5 ng / kg de peso corporal / dia [126], contudo, equacionando outros critérios científicos estabeleceu-se uma dose semanal admissível de 120 ng / kg de peso corporal [127].

Incidência na atualidade

A OTA, assim como outras micotoxinas, também apresentam graves consequências a nível socioeconómico, sendo responsável por elevadíssimos prejuízos, nomeadamente na produção e processamento de cereais, na redução do valor nutricional dos alimentos e ainda nas consequentes perdas devidas a patologias / mortes de animais alimentados com rações contaminadas. A figura 2.9 apresenta uma visão geral sobre a distribuição da OTA nos alimentos, nas diferentes áreas geográficas do mundo no ano de 2009.

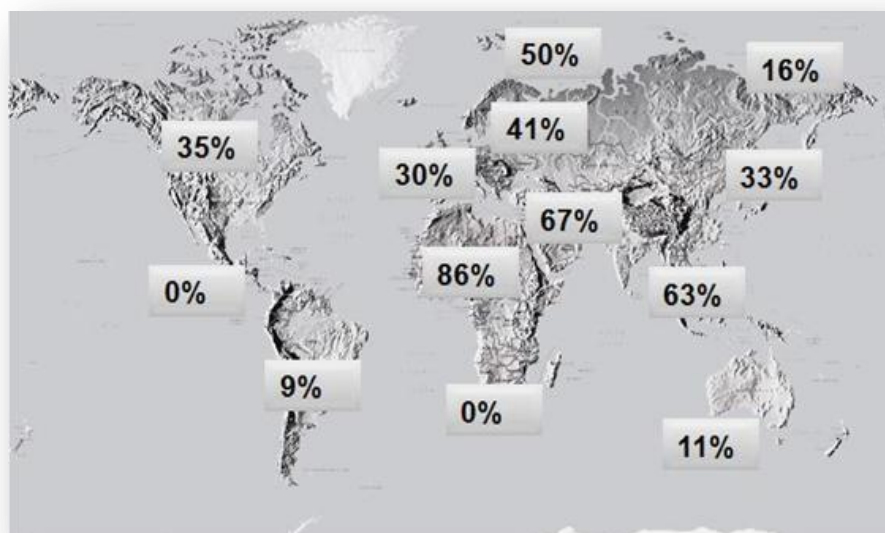


Figura 2.9 - Prevalência da ocratoxina A no mundo [128].

2.2.9.3. Legislação associada para garantir a segurança alimentar

A regulamentação implementada, nomeadamente a nível da União Europeia, visa proteger a saúde do consumidor, mediante imposição de limites de micotoxinas nos produtos agroalimentares. Note-se contudo que, independentemente dos limites impostos nos diferentes países, a legislação obriga os agentes económicos a controlar a presença das micotoxinas em determinados alimentos, impedindo a comercialização de alimentos contaminados com valores acima dos permitidos. Neste contexto, os métodos analíticos, essenciais para uma correta monitorização da presença de micotoxinas, deverão ser validados e reconhecidos internacionalmente como métodos oficiais, como por exemplo os da AOAC *International* (*Association of Analytical Communities International*), CEN (*Comité Européen de Normalisation*) ou ISO (*International Organization for Standardization*) [129].

Em Portugal existem atualmente dois regulamentos que estabelecem os limites máximos admitidos nos produtos alimentares onde a ocorrência de OTA é mais prevalente. Partindo da informação obtida no Regulamento (CE) Nº 1881/2006 [127], a análise científica relacionada com a OTA em produtos alimentares foi realizada com base na adoção de um parecer científico elaborado pelo Comité Científico da Alimentação Humana, na avaliação sobre o consumo diário de OTA pela população comunitária no âmbito da Diretiva 93/5/CEE do

Conselho, de 25 de Fevereiro de 1993, relativa à assistência dos Estados-Membros à Comissão [127].

Para a elaboração do Regulamento (CE) nº 1881/2006 [127] foi adotado um parecer científico atualizado relativo à OTA nos alimentos, elaborado pelo painel científico dos contaminantes da cadeia alimentar da EFSA. Em concordância com os pareceres científicos referidos, foram fixados teores máximos para cereais, produtos à base de cereais, passas de uva, café torrado, vinho, sumo de uva e alimentos para lactentes e crianças jovens, os quais contribuem todos de forma significativa para a exposição geral dos seres humanos à OTA, ou para a exposição de grupos vulneráveis de consumidores, tais como as crianças. O parecer científico da EFSA decidiu fixar um teor máximo de OTA em géneros alimentícios, tais como frutos secos (à exceção de passas de uva), cacau e produtos à base de cacau, produtos à base de carne, café verde e cerveja, bem como proceder à revisão dos teores máximos existentes, nomeadamente no que se refere à OTA em passas de uva e sumo de uva [127].

Alguns géneros alimentícios, nomeadamente especiarias e alcaçuz, que constituem fatores significativos de exposição à OTA, foram recentemente considerados no Regulamento (UE) Nº 105/2010 da Comissão Europeia de 5 de Fevereiro de 2010 [130], que altera o Regulamento (CE) Nº 1881/2006 [127], que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. Alimentos que não tenham significativa exposição à OTA, e onde só raramente se detetaram teores elevados da micotoxina, não necessitam do estabelecimento de um limite com o teor máximo [130].

De acordo com o Regulamento (UE) Nº 105/2010 [130], no caso do café verde e da cerveja, a presença da OTA já é controlada numa outra fase mais adequada da cadeia de produção. Note-se contudo que um estudo realizado em 2004 sobre a regulamentação referente a micotoxinas, com enfoque a nível mundial, demonstrou que dos 99 países que possuíam algum tipo de regulamentação para o controlo de micotoxinas, apenas 37 possuíam regulamentação para a OTA [131]. É portanto adequado continuar a monitorização da OTA em géneros alimentícios para os quais não se fixou um teor máximo e, caso se detetem com regularidade teores invulgarmente elevados de OTA deverá ser ponderada a fixação de um teor máximo para a OTA nesses géneros alimentícios. Os teores máximos admitidos nos estados membros para determinados géneros alimentícios regulamentados encontram-se nas tabelas 2.7 e 2.8.

Tabela 2.7 - Teores máximos de OTA em determinados géneros alimentícios de acordo com o Regulamento (CE) N° 1881/2006 [127].

Géneros alimentícios	Teores máximos (µg/kg)
Cereais não transformados	5,0
Todos os produtos derivados de cereais não transformados, incluindo produtos à base de cereais transformados e cereais destinados ao consumo humano direto (com exceção dos referidos abaixo)	3,0
Passas de uvas (uvas de corinto, uvas e sultanas)	10,0
Café torrado, moído ou em grão, com exceção do café solúvel	5,0
Café solúvel (café instantâneo)	10,0
Café verde, frutos secos que não uva passa, cerveja, cacau e produtos derivados do cacau, vinhos licorosos, produtos à base de carne, especiarias e alcaçuz (1)	s.l.

(1) Não foram estabelecidos teores máximos para os produtos colocados, com exceção das especiarias e alcaçuz. S.l. – sem limites estabelecidos.

Tabela 2.8 - Teores máximos de OTA em determinados géneros alimentícios de acordo com o Regulamento (UE) N° 105/2010 [130].

Géneros alimentícios	Teores máximos (µg/kg)
Especiarias <i>Capsicum</i> spp. (o fruto seco, inteiro ou triturado, incluindo pimentos, pimento em pó, pimenta de caiena e pimentão-doce).	30,0 (de 1.7.2010 a 30.6.2012)
<i>Piper</i> spp. (o fruto, incluindo a pimenta branca e a pimenta preta); <i>Myristica fragrans</i> (noz-moscada); <i>Zingiber officinale</i> (gengibre); <i>Curcuma longa</i> (curcuma); Misturas de especiarias que contenham uma ou mais das especiarias indicadas anteriormente.	15,0 (a partir de 1.7.2012)
Alcaçuz (<i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>Glycyrrhiza inflata</i> e outras espécies)	20,0
Raiz de alcaçuz, ingrediente para infusão de ervas aromáticas.	
Extrato de alcaçuz, para utilização em alimentos, sobretudo em bebidas e produtos de confeitaria.	80,0

A tabela 2.9 apresenta um resumo da aplicação do sistema HACCP na produção de café verde comercial. A presença de ocratoxina A aquando uma secagem ineficiente, e a sua produção durante as etapas de armazenamento e transporte (humidade dos grãos > 13 %) constituem pontos críticos de controlo a considerar no âmbito da garantia de segurança alimentar do café verde comercial e por conseguinte torrado e solúvel.

Tabela 2.9 - Resumo da aplicação do sistema HACCP na produção de café comercial [26, 35].

Plano HACCP			Plano de Controlo do HACCP					
Etapa	PCC	Perigo	Medida Preventiva	Limite Crítico	Procedimento	Frequência	Ação Corretiva	Responsável
Secagem	PCC1	Presença de OTA	BPA: Instalações do terreiro, plano de higienização, procedimentos de secagem otimizada do café no terreiro. Garantia de processo de secagem rápido e uniforme até atingir o nível de humidade máxima de 13%.	Humidade do grão no final da secagem < 13 %.	Registo da humidade	Em cada lote. Diária	Otimizar a secagem através do aumento da frequência de espalhamento, diminuição da camada de grãos. Introduzir secagem mecânica.	Técnico de Controlo da Qualidade
Armazenamento e transporte	PCC 2	Produção de OTA	Controlo de humidade / temperatura.	Humidade do grão < 13 °C; humidade < 70 %; temperatura ambiente < 25 °C.	Registo da temperatura, da humidade do ar e a humidade dos grãos.	Em cada lote. Diária	Corrigir a humidade do ambiente (ventilação); reprocessar secagem dos grãos.	Operador de produção

Abreviatura: PCC – Ponto crítico de controlo.

2.2.9.4. Rastreabilidade e garantia da qualidade do café

O café representa para os países de origem uma importante fonte de riqueza. A produção de um produto diferenciado, que preencha os requisitos de qualidade impostos pelos importadores, tornou-se, com o passar dos anos um objetivo crucial para os produtores. A tecnologia, em toda a cadeia produtiva, tem-se revelado fundamental na qualidade da produção, bem como um ponto fulcral na obtenção da certificação.

Para a rastreabilidade do café, para além de todas as fases de produção e embalagem, também é necessário considerar o histórico da área de plantação.

A ênfase na rastreabilidade do café visa também a sustentabilidade económica, ambiental e social, discutindo as características rastreáveis da cadeia produtiva do café, bem como as boas práticas agrícolas que constituem a base dos processos de certificação. A certificação, imposta pela pressão dos mercados externos, contribuiu para a rastreabilidade de todas as fases do processo, para a melhoria da qualidade do produto e para práticas ambientalmente sustentáveis e socialmente justas [132].

Os programas informáticos de gestão de operações e custos na indústria do café vão de encontro às necessidades dos cafeicultores, por se adequarem à exigência dos mercados, principalmente do internacional, que exigem rastreabilidade, certificação de origem e qualidade dos cafés. Torna-se portanto necessário garantir a certificação da procedência, qualidade e práticas ambientais e sociais sustentáveis e justas [133, 134].

Como os benefícios que a certificação pode trazer ao produtor, destacam-se a organização do sistema de gestão e produção da propriedade cafeeira, a agregação de valor, a preferência do mercado, a padronização da qualidade do café produzido, a disposição de um produto mais seguro para o consumidor, a otimização na utilização de recursos naturais e a participação nos mercados de forma mais competitiva [28].

Além destes benefícios, a certificação é hoje, cada vez mais, uma exigência do mercado e não apenas um diferencial competitivo. O consumidor mundial preocupa-se assim, não só com a qualidade do café, mas também quer ter a certeza que o mesmo é produzido com respeito pela biodiversidade e dignidade do trabalhador rural. Para atender a estes fatores, os importadores exigem não só a certificação da qualidade do produto, como também das práticas ambientais e sociais [134].

Processo de rastreabilidade do café

O sistema de rastreabilidade acompanha o produto desde a sementeira até à chávina, possibilitando o respetivo rastreio em qualquer etapa do processo produtivo, desde o controlo de uso de produtos fitofarmacêuticos, adubações, colheita, pós-colheita e armazenamento, passando também pelos estágios necessários à formulação do produto final como *blends* / misturas, torra, moagem, embalagem e distribuição.

O acompanhamento de todos os estádios da cadeia de valor do café permite informar o consumidor (intermediário e / ou final) de qualquer dado com eventual interesse. Estes poderão ter base social, ambiental, de gestão, de certificações, geográficas, qualidade / classificação do produto, ou qualquer outro padrão que seja necessário verificar, comparar ou diferenciar. Os *softwares* desenvolvidos com o intuito de rastrear os produtos são concebidos para que sejam ferramentas confiáveis, auditáveis e especializadas no agronegócio do café [134, 135]. São concebidos com base nos diferentes itens: (1) cadastro da propriedade rural, histórico da área de plantação e registo de informações gerais; (2) cadastro individual dos talhões, manejos específicos e certificações. As plantações em covas e sulcos adequados, a fertilização da plantação e cobertura, o manejo das plantas invasoras visando a produção de matéria orgânica, a amostragem de folhas e frutos para se determinar a incidência e a severidade das doenças e pragas, a tecnologia de aplicação de fitofarmacêuticos, o emprego de variedades resistentes, o controlo biológico, químico, das culturas, a par do controlo legislativo, que se preocupa com a disseminação de organismos patogénicos; (3) a atribuição de código de rastreabilidade; (4) a impressão de etiquetas ou registos utilizando identificadores eletrónicos; (5) identificação individual de cada saco; (6) o produto avança à etapa de armazenamento e benefício, onde são registados à entrada dados sobre procedimentos técnicos de benefício e laboratoriais; (7) torra, registo do tempo / temperatura da torra a que o produto foi submetido; (8) formulação de *blends* ou composições (utilizado sempre que o café for misturado), sendo que nesse caso é desenvolvido um novo código para o produto; (9) classificação do produto, substituição da etiqueta eletrónica (quando utilizada) por um código de barras, registo das informações de saída do produto da etapa de benefício e armazenamento; (10) consumidor final, acesso aos dados para consulta das informações referentes ao código de rastreabilidade presente na embalagem do produto (o acesso pode ser efetuado através da Internet ou telemóvel [35, 134, 135]. A figura 2.10 apresenta um esquema da estrutura de um sistema de rastreabilidade considerando o Comércio Justo e a Certificação do café.

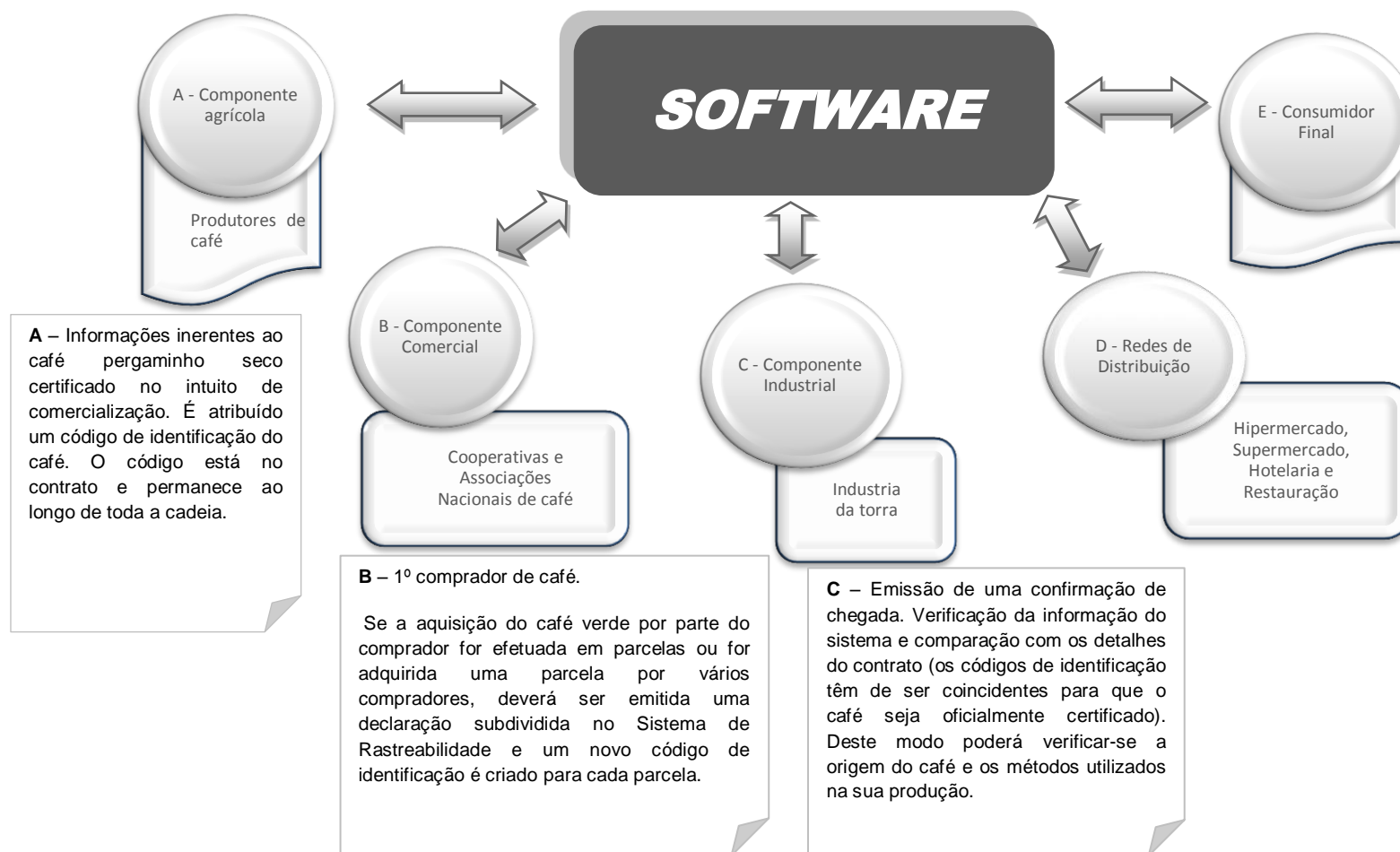


Figura 2.10 - Esquema da estrutura de um sistema de rastreabilidade considerando o comércio justo e a certificação do café.

2.3. Alimentos funcionais

Na última década surgiram inúmeros estudos (atente-se ao artigo de revisão de 2005 “*Is coffee a functional food?*” [136] e mais recentemente ao artigo “*Functional properties of coffee and coffee by-products*” [24]) que apoiam a integração do café na categoria dos alimentos funcionais. De facto, alguns estudos epidemiológicos e experimentais têm demonstrado que o consumo regular de café tem um impacto positivo em vários aspetos da saúde. Devido ao impacto que o café tem na saúde pública, por ser uma bebida muito apreciada e consumida a nível mundial, é suscetível de inúmeros estudos. De facto, recentemente surgiram alguns estudos que comprovaram os efeitos benéficos desta bebida, principalmente os que referenciam e remetem para a atividade antioxidante [44-47, 49, 100, 137-140].

2.3.1. Componentes do café que o evidenciam como alimento funcional

A cafeína tem sido o componente do café mais estudado e ao qual os benefícios do café tem sido atribuídos na maioria dos estudos epidemiológicos. Os benefícios evidenciados e revistos recentemente (entenda-se, um consumo moderado da bebida) incluem melhoria do humor, aumento da disponibilidade de energia, do desempenho físico, motor e cognitivo, aumento do gasto energético diário, diminuição da fadiga [141, 142], aumento da vigilância e vigília, aceleração e aumento da precisão de reações, capacidade de concentração e atenção, aumento da memória de curto prazo, da capacidade de resolver problemas que requerem raciocínio e capacidade de tomar decisões corretas [142]. As capacidades de funcionamento cognitivo e de coordenação neuromuscular revelam-se aprimoradas, o que evidencia a redução dos sintomas associados à doença de Parkinson [142]. No entanto, as perspetivas para utilização da cafeína para fins terapêuticos recaem sobre patologias como a doença de Alzheimer, asma, cancro, diabetes tipo II, doenças respiratórias como a apneia e a doença pulmonar obstrutiva crónica bem como no tratamento da dor, da depressão e de algumas doenças relacionadas com o comportamento [143]. Os efeitos benéficos não se restringem apenas à cafeína, outros compostos com atividade antioxidante também estão presentes no café. A trigonelina presente no café também parece evidenciar benefícios como a atividade anti-invasiva contra células cancerígenas do fígado [144], capacidade de regenerar dendritos e axónios e na melhoria da memória em modelos animais [145], agente antimicrobiano, inibe o crescimento de *Streptococcus mutans* responsáveis pela cárie dentária [146] e mais recentemente foi identificada como um possível novo fitoestrogéneo [147]. A degradação de trigonelina com a torra permite a formação de ácido nicotínico que se apresenta na bebida de café em quantidades relevantes para a dieta alimentar. Uma chávena de café pode ter em média 2 mg de ácido nicotínico, o que é significativo pois a dose diária recomendada (DDR) para o sexo masculino e feminino corresponde a 17 mg/dia e 13 mg/dia, respetivamente.

Os efeitos benéficos à saúde, atribuídos aos ácidos clorogénicos, são explicados pela elevada atividade antioxidante dos mesmos [139]. Algumas das propriedades farmacológicas *in vitro* e

in vivo dos ácidos clorogénicos estão associadas a atividades hipoglicémica, antiviral, hepatoprotetora e imunoprotetora [78].

As latonas dos ácidos clorogénicos (CGL) também têm sido estudadas devido aos seus potenciais efeitos hipoglicemiantes [148] e pelas suas ações nos recetores cerebrais de opióides e adenosina [149].

O óleo do café possui elevados níveis de ácido linoleico, sendo um excelente emoliente e também elevadas concentrações de ácido palmítico, aspeto que confere proteção à pele [150]. Neste contexto convém salientar que o ácido linoleico se vem tornando cada vez mais popular por estar associado à diminuição do colesterol sérico [20,21]. Verifica-se uma relação inversa entre a ingestão de ácido linoleico, a concentração de colesterol plasmático e a incidência de doenças coronárias [151].

Os tocoferóis também estão presentes no óleo do grão do café, embora constituam apenas uma contribuição muito pequena para a ingestão diária recomendada de vitamina E (15 mg de α -tocoferol)[152]. No entanto, também se reconhece o seu efeito como antioxidante, sendo lipossolúvel. A título de exemplo, aponte-se que numa chávena de café expresso (30 mL) podem detetar-se $1,37 \pm 0,47 \mu\text{g}$ de α -tocoferol e $2,09 \pm 0,67 \mu\text{g}$ de β -tocoferol [153].

A serotonina, que atua como um neurotransmissor no sistema nervoso central e seus precursores, L-triptofano e 5-hidroxitriptofano, têm sido detetados no café verde e torrado. Níveis mais elevados de serotonina, juntamente com os níveis mais baixos dos precursores, sugerem que a serotonina pode ser formada pela degradação térmica dos seus precursores [154].

As melanoidinas apresentam atividade antioxidante e antimicrobiana [155], propriedades quelantes de metais, atividade anti-hipertensiva e atividade antimutagénica [156] e são parcialmente degradadas pelas bactérias do intestino humano [157].

Alguns estudos também parecem evidenciar que o extrato de café torrado tem uma atividade antibacteriana contra vários microrganismos, destacando-se a *Staphylococcus aureus*, a *Streptococcus mutans* [146, 155] e várias estirpes de enterobactérias [158], provavelmente devido à atividade antibacteriana dos componentes de café, tais como o ácido cafeico, trigonelina, cafeína, ácido clorogénico e ácido protocatecuico [158], bem como de melanoidinas formadas durante o processo de torra [156].

Acresce ainda que o café verde tem sido incorporado sob a forma de extrato em café torrado, cápsulas e comprimidos, e alvo de estudos que comprovam os seus benefícios como potencial antioxidante [159], apresentando ainda propriedades que permitem controlar o peso corporal [160], reduzir a pressão arterial [161], a atividade antibacteriana [162] e o efeito anti-hipertensivo [163].

2.3.2. Evidências da pele de prata como ingrediente funcional

Como a pele de prata é a camada exterior do grão de café torrado, é razoável assumir que algumas das propriedades descritas para a bebida de café estejam também presentes na pele de prata.

A pele de prata tem merecido um amplo destaque como potencial ingrediente funcional devido à fibra alimentar e às propriedades antioxidantes que a caracterizam [24, 164]. Apresenta uma quantidade significativa de cafeína (1,03 %) e celulose bruta (27,42 %) [165]. Na tabela 2.10 apresentam-se alguns compostos que evidenciam as propriedades funcionais da pele de prata.

Tabela 2.10 - Componentes que evidenciam a pele de prata como potencial ingrediente funcional [166].

Fibra dietética total (%)	Fibra dietética solúvel (%)	CGA (%)	Polifenóis totais (% w/w CGA)	Atividade antioxidante total ^a
80 ± 0,6	16 ± 0,5	3,0 ± 0,8	1,32 ± 0,9	2,1 2 ± 0,4

^a mmol trolox / 100g de matéria seca

Esta película dispõe de uma elevada quantidade de fibra dietética total, assim como uma quantidade de fibra dietética solúvel relevante. A fibra dietética abrange uma enorme variedade de macromoléculas, exibindo uma ampla gama de propriedades físico-químicas. A principal vantagem desta fibra, proveniente de subprodutos agroindustriais, quando comparada com outras fontes alternativas como os cereais, é a sua maior proporção de fibras solúveis [167].

Tem uma baixa quantidade de gorduras e açúcares redutores, bem como uma atividade antioxidante marcada devido à composição peculiar da sua fibra, que é rica em produtos da reação de *Maillard* e mantém alguns compostos fenólicos. Apresentando potencial de atividade prebiótica, alguns ensaios preliminares mostraram também que a pele de prata suporta preferencialmente o crescimento de bifidobactérias *in vitro*, sugerindo que o consumo da mesma possa ter alguns efeitos prebióticos [164].

Um estudo [168] mostrou que o extrato de pele de prata teve um efeito inibidor sobre a hialuronidase, e que polissacarídeos ácidos compostos principalmente por ácido urónico contribuem para a inibição da hialuronidase pelo extrato de pele de prata. Estas observações sugerem que o extrato de pele de prata seria um ingrediente promissor para o desenvolvimento de alimentos funcionais e anti-alergêneos.

2.3.3. Cacau como ingrediente funcional

Alguns estudos em produtos com cacau concluíram que o cacau em pó natural apresentava, comparativamente com outros produtos à base de cacau (chocolate preto, chocolate de leite, xarope de cacau, pepitas de chocolate semi amargo para chocolate quente e preparado para chocolate quente sem açúcar), um teor de polifenóis totais, epicatequina, catequina, procianidinas, capacidade antioxidante total e capacidade de remoção do radical oxigênio (ORAC) consideravelmente superiores [169, 170]. A tabela 2.11 caracteriza 3 tipos de cacau em pó, equacionando as respectivas evidências como ingrediente rico em antioxidantes.

Tabela 2.11 - Algumas evidências do cacau como ingrediente funcional [170].

Amostras de cacau em pó	SCD ^a (%)	Gordura (%)	ORAC (μmol de TE) ^b	Capacidade Antioxidante VCEAC ^c	Total polifenóis (mg GAE/g) ^d	Epi ^e (mg/g)	Cat ^f (mg/g)	Epi + Cat (mg/g)
CP-1	85,20	12,40	875,00	42,30	60,20	2,83	0,90	3,72
CP-2	72,20	21,70	720,00	37,40	45,30	1,26	0,35	1,61
CP-3	87,30	11,00	816,00	40,20	51,70	1,47	0,49	1,96
MÉDIA	81,57	15,03	803,67	39,97	52,40	1,85	0,58	2,43

^a SCD - Sólidos do cacau sem gordura; ^b TE – Equivalentes em trolox; ^c VCEAC - unidades expressas em equivalentes de vitamina C (mg/g); ^d GAE - equivalentes de ácido gálico; ^e Epi – epicatequina; ^f Cat – catequina.

2.3.4. Estudos *in vivo* e *in vitro*

Os efeitos benéficos do café torrado, café verde, cacau e, mais recentemente, também da pele de prata vêm sendo comprovados em diferentes estudos. Existem indicações promissoras acerca dos benefícios do café verde principalmente na promoção da perda ponderal, no entanto os estudos realizados até ao momento não apresentam qualidade e rigor suficientes para confirmarem o efeito [171]. Outros estudos realizados com bebidas de café torrado (tabela 2.12) e bebidas de cacau (tabela 2.13) comprovam os efeitos benéficos. Note-se contudo que a pele de prata carece de informação neste tipo de estudos realizados em humanos.

Tabela 2.12 - Estudos que comprovam que o café é um potencial alimento funcional

Componentes ativos	Especificação da matriz alimentar	Caracterização dos participantes	Condição inicial	Metodologia (dose/duração)	Parâmetros medidos	Resultados /Conclusões	Referência
Ácidos clorogénicos	Extrato de café verde (EXCV)	62 indivíduos	Peso corporal: Grupo EXCV: 76,6 ± 7,3 kg Grupo controlo: 77,4 ± 1,9 kg	180 mg/dia durante 4 semanas	Parâmetros antropométricos: peso	Média da perda ponderal: Grupo EXCV: ↓ 1,4 ± 0,8kg Grupo controlo: ↓ 0,1 ± 0,3kg	[171]
Polifenóis e cafeína	Café filtrado	47 indivíduos	Consumidores habituais de café	1º mês: Abstenção de café 2º mês: 4 chávenas de café filtrado/dia 3º mês: 8 chávenas de café filtrado/dia	Amostras de sangue; GC-MS; ELISA; Imunonefelometri a.	↑ dos compostos derivados do café no soro (cafeína, ácido clorogénico e ácido cafeico) Colesterol total ↑ 12 % HDL colesterol ↑ 7 % Apolipoproteína A1 ↑ 4 % Rácios de colesterol LDL e HDL e da apoproteína B e A, ↓ significativamente em 8 % e 9 % respetivamente. Não houve alteração nos marcadores do metabolismo da glucose.	[172]
Antioxidantes	Café	38	Saudáveis	800 mL de café ou 800 mL de água durante 5 dias	Deterioração do DNA em linfócitos periféricos. Parâmetros bioquímicos do estado <i>redox</i> .	A extensão da migração de DNA atribuída à formação de purinas oxidadas ↓ 12,3 %. Previne a formação endógena do dano oxidativo do DNA em humanos.	[173]

Componentes ativos	Especificação da matriz alimentar	Caracterização dos participantes	Condição inicial	Metodologia (dose/duração)	Parâmetros medidos	Resultados /Conclusões	Referência
	Bebida	114 indivíduos 68 mulheres; 46 homens Idade média:59 anos; japoneses	Sem DCV e sem DRC grave	Grupo de consumidores de café Grupo controlo: não consome café	IMC; pressão arterial; glicemia; lípidos; proteína C reativa (PCR) TFG Estudo da modificação da dieta na doença renal.	↑ valores de TFG 73,9 ± 16,5 mL/min no grupo que bebem café. Grupo controlo: TFG (68,6 ± 11,7) A diferença foi significativa (F=5,04; P=0,027)	[174]
Ácidos clorogénicos e trigonelina	Suplementos: (i) 12 g café descafeinado Nescafé Gold (ii) 1 g de ácido clorogénico (iii) 500 mg de trigonelina (iv) 1 g de manitol (placebo)	15 H IMC (25-35 kg/m ²)	Saudáveis Restrição de café a 1 chávena	Suplementos dissolvidos em 270mL de água. 4 ensaios / 6 dias Ingestão de suplementos 30 minutos antes dos TOTG	[] de glucose e insulina 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após o TOTG.	Ácido clorogénico: ↓ glucose -↓0,7 mmol/L ↓ Insulina -↓73 pmol/L Trigonelina: ↓ glucose -↓ 0,5 mmol/L ↓ insulina -↓ 117 pmol/L A ingestão de CGA e trigonelina promoveram ↓rápida da insulina e glucose durante a TOTG.	[175]
Efeito prebiótico	Bebida de café solúvel (3,4 g) torrado e verde	16 indivíduos	Saudáveis	3 chávenas de café solúvel por dia; 3 semanas	Amostras de fezes antes e após o consumo de café	↑ População de <i>Bifidobacterium spp.</i> ↑ atividade metabólica	[176]
Ácidos clorogénicos	Extrato de café verde (EXCV)	50 indivíduos 19-75 anos		200 mg dia / 12 semanas	Parâmetros antropométricos: peso	Média da perda ponderal: Grupo EXCV: ↓ 4,97 ± 0,32 kg Grupo controlo: ↓ 2,45 ± 0,37 kg	[177]

Componentes ativos	Especificação da matriz alimentar	Caracterização dos participantes	Condição inicial	Metodologia (dose/duração)	Parâmetros medidos	Resultados /Conclusões	Referência
Ácidos clorogénicos (extrato de café verde)	Bebida: 400 mL i) sacarose + ii) café <i>Slender</i> ®; iii) <i>Nescafé</i> ® <i>Gold Norwegian blend</i> iv) descafeinado (<i>Nescafé</i> ® <i>Gold Norwegian blend</i>).	12 indivíduos	Saudáveis Não fumadores IMC $\leq 25,0$ kg/m ²	(i) 25 g sacarose em 400mL água (controlo); 10 g de cada mistura de café solúvel, 25 g de sacarose e 400mL de água	Teste de tolerância à glucose Medição da glicemia antes do tratamento com as diferentes bebidas e após a ingestão da bebida nos tempos 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos.	AUC foi de $778 \pm 10,2$ mmol / L por minuto após a ingestão do controlo, $724 \pm 8,2$ mmol / L por minuto após a ingestão de café <i>Slender</i> ®. A redução da AUC após a ingestão de café <i>Slender</i> ® foi, significativa em comparação com a ingestão da bebida controlo ($P \leq 0,05$). Não houve diferenças significativas em relação ao controlo após a ingestão de café instantâneo normal ou café solúvel descafeinado.	[178] Estudo1
Ácidos clorogénicos	Bebida: cafés solúveis <i>Slender</i> ® Controlo: <i>Nescafé</i> ® <i>Gold Norwegian blend</i>)	30 indivíduos 12 homens; 18 mulheres	Excesso de peso (IMC $27,5-32,0$ kg / m ²) não-fumadores que não tomam medicação para o tratamento de doenças crónicas.	5 chávenas (saquetas) / dia (11 g / dia de café) café <i>Slender</i> ® (1 g/dia EXCV) Controlo - <i>Nescafé Gold</i> 12 semanas Dieta e exercício normal	Parâmetros antropométricos: Peso, IMC, massa gorda.	As reduções do peso médio \pm DP nos voluntários que ingeriram café <i>Slender</i> ® e café normal foram de $5,4 \pm 0,6$ e $1,7$ kg $\pm 0,9$. A percentagem de gordura corporal no grupo <i>Coffee Slender</i> ® mostrou uma redução estatisticamente significativa de 27,2 % no início para 23,6 % no final.	[178] Estudo 2

Componentes ativos	Especificação da matriz alimentar	Caracterização dos participantes	Condição inicial	Metodologia (dose/duração)	Parâmetros medidos	Resultados /Conclusões	Referência
Ácidos clorogénicos	Café robusta descafeinado	6 indivíduos 4 mulheres 2 homens (22 – 55 anos) Não fumadores	Saudáveis	250 mL água + 40 g de café filtrado 190 mL a cada indivíduo (restrição de polifenóis na dieta)	Determinação de CGA Amostras de sangue: 0,5; 1; 1,5; 2; 3 e 4 horas após consumo. Urina (0-2) e (2-4) horas.	Ácidos hidroxycinâmicos no plasma: 5-CQA - 40 % 3-CQA e 4-CQA - 18 % di-CQA - 28 % Ácido cafeico - 14 %	[179]
Ácidos fenólicos	Bebida	10 indivíduos	Saudáveis	200 mL de café filtrado Apenas 1 ingestão	Amostras de sangue antes, 30 e 60 minutos após a ingestão da bebida Alterações no estado redox dos níveis de LDL.	↑ da resistência da LDL à modificação oxidativa	[180, 181]
Polifenóis	Medicamentos de EXCV (extrato de café verde)	117 homens	Hipertensão ligeira	1 placebo e 3 grupos de medicamentos (46 mg, 93 mg ou 185 mg de EXCV), uma vez por dia.	Pressão arterial	Placebo - ↓ 1.33.0 mmHg, 46mg EXCV - ↓ 3.24.6 mmHg, 93 mg EXCV - ↓ 4.74.5 mmHg e 185mg EXCV - ↓ 5.64.2 mmHg	[163]
Polifenóis	Café filtrado	Homens finlandeses	Saudáveis	3 ou 6 chávenas de café filtrado 3 semanas	Amostras de plasma e urina Homocisteína, peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes	Não produziu alterações significativas na homocisteína, peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes; ↑ da excreção de ácido fenólico e ácido cafeico.	[182]

Componentes ativos	Especificação da matriz alimentar	Caracterização dos participantes	Condição inicial	Metodologia (dose/duração)	Parâmetros medidos	Resultados /Conclusões	Referência
Polifenóis	Bebida	Homens japoneses	Saudáveis	3 chávenas café / dia	Amostras de sangue LDL	↓ oxidação LDL em 30 % e retorno ao normal após a cessação do café.	[183]
Diterpenos bioativos	Bebida de café sem filtro	22 indivíduos Controlo: 5 indivíduos	Saudáveis	5 chávenas de café / dia 1 semana Dieta normal	Amostras de plasma Glutathione Hidroperóxido Homocisteína.	↑ 16 % níveis de glutathione no plasma. Não houve diferença significativa nos hidroperóxidos e homocisteína do plasma.	[184]
Capacidade antioxidante	Bebida de café	Indivíduos Italianos	saudáveis	200 mL café	Amostras de plasma: redox homeostasis 0; 1 e 2 horas. Testes de TRAP e de <i>Crocin</i> .	↑ capacidade antioxidante no plasma de 7%. Efeito antioxidante in vivo após a ingestão de café.	[180]
CGA	Bebida com os diferentes ácidos	4 mulheres 3 homens	Ileostomizados	2,8 mmol ácido cafeico 2,8 mmol ácido clorogénico ≠ dias	Amostras de urina de 24 horas e fluidos da ileostomia.	Absorção de ácido clorogénico: 33 %; ácido cafeico: 95 %.	[185]
Flavanóis	Bebida	20 indivíduos	Fator de risco DCV.	Bebida com diferentes teores de flavanóis.	- dilatação da artéria braquial mediada pelo NO. - concentrações de compostos nitrosos no plasma.	↑ da concentração de compostos azotados no plasma. ↑ dilatação da artéria braquial.	[186]

Tabela 2.13 - Estudos que comprovam que a bebida de cacau apresenta benefícios para a saúde.

Componente ativo	Matriz	Caracterização dos elementos	Condição inicial	Metodologia (dose/duração)	Parâmetros medidos	Resultados	Referência
Procianidinas	Bebida de cacau	3 homens 3 mulheres (23-31 anos)	Saudáveis	500 mL água + 37,5 g <i>Cocoapro</i> , 24 g de sacarose, 0,375 g de carragenato, 0,016 g etilvanilina; (0,375 g de flavanóis, 0,733 g de procianidinas)	Amostras retiradas com tubo nasogástrico no tempo 0 e a cada 10 min até esvaziar estômago. Flavanóis e procianidinas quantificados em HPLC fase normal e reversa	Estabilidade das procianidinas no ambiente estomacal.	[187]
Polifenóis	Bebida	12 homens 18 mulheres (24-50 anos)	saudáveis	(i) 300 mL de bebida de cacau (18,75 g de <i>Cocoapro</i> , com 897 mg de epicatequina e procianidinas ou (ii) bebida contendo cafeína ou (iii) água.	Amostras de sangue periférico (antes, 2 e 6 h após a ingestão). Atividade plaquetária por anticorpos monoclonais e citometria de fluxo.	↓ ativação plaquetária 2 a 6 h após a ingestão do cacau.	[188]

Abreviaturas: EXCV – Extrato de café verde; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; HDL – Lipoproteína de alta densidade; GC- MS – Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massa; ELISA – *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*; DNA - *Deoxyribonucleic acid*; DCV-Doenças cardiovasculares; DRC – Doença renal crônica; TFG – Taxa de filtração glomerular; IMC – Índice de massa corporal; PCR – Proteína C reativa; TOTG - Teste oral de tolerância à glucose; ↑ - aumento; ↓ - diminuição.

2.3.5. Legislação e alegações de saúde

Os alimentos funcionais devem ser seguros e, por consequência, obedecer a critérios definidos atualmente na legislação alimentar. Contudo, novos conceitos e procedimentos têm de ser concebidos e validados de forma a garantir a produção e comercialização de alimentos funcionais sem qualquer risco e com os benefícios inerentes aos mesmos para a saúde do consumidor.

O Regulamento (CE) Nº 1924/2006 [189] remete para as conclusões científicas respeitantes aos projetos europeus *Functional Food Science in Europe (FUFOSÉ)* e *Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods (PASSCLAIM)*, que foram ferramentas fundamentais na elaboração do documento que regula as alegações nutricionais e de saúde, efetuadas em comunicações comerciais, como a rotulagem e publicidade relativas aos géneros alimentícios. A Comissão Europeia aprovou este regulamento relativo às alegações nutricionais e de saúde, que entrou em vigor a 1 de Julho de 2007 [189]. Nele são estabelecidos os princípios gerais aplicáveis a todas as declarações relativas a um alimento, que permitam ao consumidor obter informação que não o leve a ser induzido em erro. Em síntese, o Regulamento estabelece, em relação às menções publicitárias e / ou contidas no rótulo dos produtos, que estas: não podem ser falsas, ambíguas ou enganosas; não devem incentivar ao consumo excessivo do alimento; não podem afirmar, sugerir, ou dar a entender, que uma dieta equilibrada e variada não pode proporcionar quantidades adequadas de nutrientes; demonstrar que as substâncias com as alegadas propriedades nutricionais ou de saúde, possuem um efeito benéfico e que está presente no produto em quantidades suficientes para produzir esses efeitos; o mesmo se aplica nos casos em que as alegações recaem sobre produtos cujos efeitos benéficos se produzem pela ausência de determinadas substâncias.

De acordo com o n.º 1 do art.º 6º [189], as alegações nutricionais e de saúde devem ser baseadas e fundamentadas em dados científicos geralmente aceites, pelo que só deverão ser autorizadas para utilização na UE depois de uma "avaliação científica do mais elevado nível que seja possível". De modo a assegurar uma avaliação científica harmonizada das alegações, caberá ainda à Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos efetuar as avaliações.

A obrigatoriedade das declarações sobre propriedades nutricionais, ou de saúde, serem facilmente perceptíveis por um "consumidor médio", e que as substâncias cujas propriedades sejam realçadas (e sejam assimiláveis pelo organismo) estão estabelecidas também no regulamento [189]. De referir também que nenhuma alegação nutricional ou de saúde poderá ser incompatível com os princípios de nutrição e saúde geralmente aceites, incentivar ou justificar o consumo excessivo de um alimento ou depreciar as boas práticas alimentares pois "*Uma dieta variada e equilibrada é uma condição indispensável à manutenção da saúde e os produtos considerados individualmente têm menos importância do que a dieta no seu conjunto*" [189].

Assim, as novas alegações de saúde só poderão ser utilizadas após análise e autorização da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos, com base em dados comprovados cientificamente. As alegações de saúde vagas, pouco claras e duvidosas quanto à comprovação científica não são, portanto, permitidas nos rótulos dos alimentos.

Não existe uma legislação específica dedicada aos alimentos funcionais. A legislação que potencialmente os abrange aborda preferencialmente os aspetos pré consumo. O acompanhamento e monitorização de pós-lançamento dos alimentos funcionais ainda não está devidamente regulamentada, sendo essa uma das críticas válidas apontadas aos alimentos funcionais [190].

2.3.6. Potenciais riscos para a saúde

O consumo de café e cafeína parecem influenciar o desenvolvimento e conversão espontânea da fibrilação atrial em pacientes hipertensos. Sugere-se assim que uma análise acurada do estilo de vida poderia ser útil para identificar pacientes com maior risco de persistência da fibrilação atrial. As fontes alimentares que contém cafeína, ao serem abolidas da dieta, poderiam resultar numa redução nos episódios de fibrilação atrial desencadeada por cafeína em doentes hipertensos [191]. De facto, consumidores não habituais de café estão mais propensos a converter a arritmia dentro de 48 horas após o início dos sintomas. Os consumidores moderados de café apresentam proteção à conversão espontânea da arritmia. Adicionalmente, os pacientes com hipertrofia do ventrículo esquerdo parecem evidenciar uma taxa reduzida de conversão espontânea da arritmia [191].

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, reconhecidos compostos cancerígenos, também podem ser formados pela combustão incompleta de matéria orgânica durante a torra. No entanto as quantidades detetadas na bebida são insignificantes [192]

A formação de acrilamida durante a torra de café também foi confirmada, especialmente durante os primeiros minutos do processo de torra [193]. Também foi observado que após a torra, o café robusta contem mais acrilamida do que o café arábica e que a concentração de acrilamida diminui com o tempo de torra, provavelmente como consequência desse processo [193]. Note-se contudo que o armazenamento à temperatura ambiente parece reduzir o teor de acrilamida no café torrado [194]. No entanto, o teor de polifenóis existente no café, bem como o ácido cítrico, protegem o café da formação de acrilamida [195]. De referir que a quantidade de acrilamida que poderá ser extraída não é significativa, nem comparável com outros produtos, nomeadamente batatas fritas, biscoitos, cereais de pequeno-almoço ou pão [195].

A formação de furanos no café está condicionada pelo tempo de torra e pela temperatura aplicada aos grãos de café verde. A formação de furanos é reduzida em torras claras (na ordem dos 140 °C), por tempos prolongados (superior a 20 minutos). Os níveis de furanos encontrados em cafés comercializados em Espanha apresentam para as bebidas de café moído (20 - 146 ng / mL), descafeinado (14 - 65 ng / mL) e café solúvel (12 - 35 ng / mL). As maiores concentrações de furanos encontram-se em cafés expressos, com concentrações superiores nas bebidas extraídas a partir de cápsulas de café *Nespresso* (117 - 244 ng / mL). A ingestão diária de furanos no consumo de café foi estimada em 0,25 e 0,38 µg / kg de peso corporal para homens e mulheres, respetivamente. Estes valores são inferiores aos correspondentes para a dose diária admissível que são de 2 µg / kg de peso corporal [196].

3. Material e Métodos

3.1. Material

3.1.1. Amostras

A realização de ensaios de comparação do *blend* final (BF) foi efetuada nas seguintes amostras adquiridas no mercado português: AS - café do mercado rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina, DCH - café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*, NV - café do mercado enriquecido com vitaminas, NG - café solúvel, com 65% de café torrado e 35% de café verde, QAL - café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*, TSS - café do mercado constituído com café torrado e pele de prata, acondicionado sob o formato de pastilha.

3.1.2. Matérias-Primas

As matérias-primas para a formulação do *blend* final foram cedidas pelas empresas Novadelta (CTBF - café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70% café robusta e 30% café arábica, CD - café dourado – café verde minimamente processado, especificado em 3.3.1.3., e PP - pele de prata) e Imperial (cacau). No mercado foi adquirido o gengibre, o alecrim, o alho e o cardamomo. A fase inicial do estudo consistiu na seleção dos cafés verdes. Após reunião com técnicos especializados na formulação de *blends*, selecionaram-se cinco misturas cafés, com diferentes origens e correspondentes às colheitas de 2009. As duas espécies utilizadas na formulação dos *blends* foram a *Coffea arabica* (comumente identificada por café arábica) proveniente de Timor, Brasil e Honduras e *Coffea canephora* (conhecida popularmente por café robusta) proveniente de Angola e Camarões (Figura 3.1). Os grãos de café correspondentes aos cafés robusta dos Camarões e Angola e arábica do Brasil foram processados por via seca no país de origem (dados obtidos pela empresa Novadelta). Selecionou-se uma pele de prata limpa e inteira.



Figura 3.1 - Sacos de café representantes das 5 origens (Brasil, Honduras, Timor, Angola e Camarões).

As amostras de café verde e torrado foram codificadas de acordo com a espécie e origem (tabela 3.1).

Tabela 3.1 - Codificação das amostras.

Espécie	Origem	Verde/torrado	Codificação
Arábica - A	Timor - T	V	ATV
Arábica - A	Timor - T	T	ATT
Arábica - A	Honduras - H	V	AHV
Arábica - A	Honduras - H	T	AHT
Arábica - A	Brasil - B	V	ABV
Arábica - A	Brasil - B	T	ABT
Robusta - R	Angola - A	V	RAV
Robusta - R	Angola - A	T	RAT
Robusta - R	Camarões - C	V	RCV
Robusta - R	Camarões - C	T	RCT

3.2. Métodos

3.2.1. Formulação do *blend* - Preparação das matérias-primas

A formulação do *blend* foi antecedida pela preparação das matérias-primas, pelo estudo das suas características tecnológicas e consequente propósito de desencadear processos para as otimizar. Alguns desses processos basearam-se na seleção dos grãos de café, com vista à separação de grãos pretos, verdes, ardidos, brocados e quebrados. Para além do controlo de qualidade efetuado às matérias-primas, esta prática foi fundamental, para a formulação de um produto minimamente processado, para a qual é preponderante a isenção de grãos defeituosos que proporcionam sabores desagradáveis (*off-flavours*) neste tipo de produtos. De referir que a predominância de grãos defeituosos, principalmente pretos, verdes, ardidos e brocados contribuem para uma bebida depreciativa [60], sendo por isso fundamental considerar esta problemática.

O processo de industrialização dos cafés atendeu às características químicas e tecnológicas das amostras selecionadas. O objetivo deste processo considerou, como referencial, o equilíbrio entre a preservação dos ácidos clorogénicos e a destruição (ou garantia de ausência) de ocratoxina A no produto formulado. Optou-se por um grau de torra ligeiramente mais claro comparativamente aos praticados a nível industrial. Foram ainda realizados processos otimizados a partir do café verde comercial (figura 3.2).

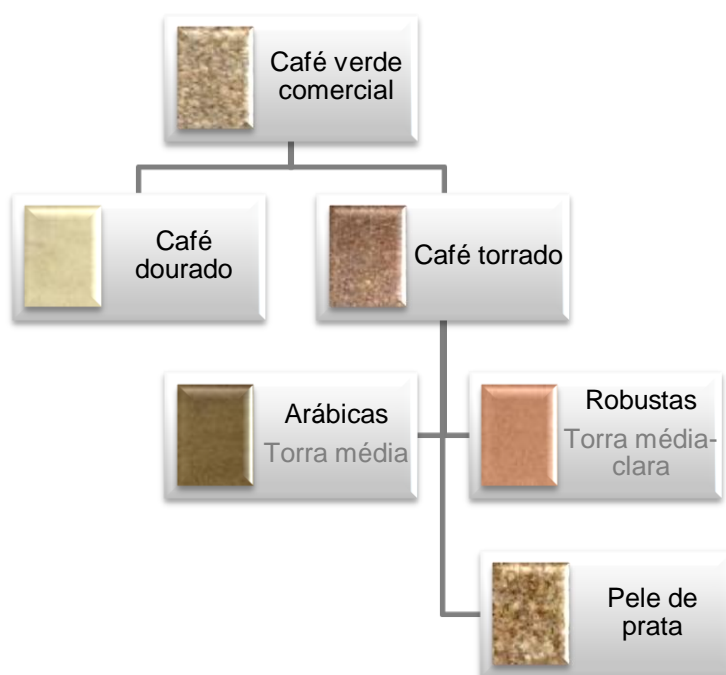


Figura 3.2 - Processamento das amostras.

3.2.1.1. Processamento - Secagem e torra dos cafés

Foram introduzidos 5 kg de café verde de cada origem e em separado no silo do torrador *Probat* (figura 3.3). As amostras foram colocadas no torrador quando a câmara do mesmo atingiu uma temperatura de 200 °C, descendo depois para os 160 °C. As temperaturas utilizadas na torra oscilaram entre 160 – 200 °C, durante aproximadamente 15 - 20 minutos, no torrador *Probat* com tambor rotativo aquecido a gás (figura 3.3). No fim da torra, adicionou-se água (cerca de 700 mL – aspeto que correspondeu a uma simulação porque num torrador industrial se adicionam cerca de 70 litros de água para 500 kg de café) e o arrefecimento ocorreu à temperatura ambiente.



Figura 3.3 - Torrador *Probat* com capacidade para 5 kg por torra.

As cores pretendidas para a torra dos cafés da espécie arábica oscilaram entre os 68 - 78 (torra média), enquanto para o robusta entre os 80 - 90 (torra média-clara), de acordo com escala de cores aplicada na Novadelta. O grau de torra foi determinado qualitativamente pela cor das partículas dos grãos, por medição da refletância através de um instrumento com células fotoelétricas [30]. Neste processo efetuou-se uma moagem padronizada e o pó comprimido de modo a que a leitura fosse uniforme. Após arrefecimento, o café foi moído e a cor analisada (figura 3.4). Com este estudo pretendeu-se obter uma torra mais clara para o robusta e média para o arábica. Utilizou-se assim a análise da cor para distinguir as diferentes torras. Foram efetuadas várias torras para otimização do processo. O café em grão torrado foi armazenado em embalagens de polipropileno / alumínio / polietileno hermeticamente seladas e armazenadas à temperatura ambiente até posterior utilização.



Figura 3.4 - Fluxograma do processo de torra realizado na Novadelta.

3.2.1.2. Formulação dos *blends* de café torrado

Inicialmente formularam-se 3 *blends* de café compostos por café arábica e robusta de 5 origens (tabela 3.2) com o objetivo de verificar qual a composição que melhor se associava com o cacau. A formulação CTBF constituída por 70 % café robusta e 30 % café arábica foi a última a ser desenvolvida e a selecionada para o *blend* final BF.

Tabela 3.2 - Composição dos *blends* de café torrado.

Blend	Café arábica (%)			Café robusta (%)	
	Brasil	Honduras	Timor	Angola	Camarões
Blend 1 (75 % arábica + 25 % robusta)	25	25	25	12,5	12,5
Blend 2 (50 % arábica + 50 % robusta)	16,5	16,5	17	25	25
Blend 3 (25 % arábica + 75 % robusta)	8,5	8,5	8	37,5	37,5
CTBF Formulação de café torrado para o <i>blend</i> final (30 % arábica + 70 % robusta)	10,64	10,64	8,72	43,4	26,6

3.2.1.3. Formulação do café dourado

O café dourado foi produzido a partir de uma seleção de grãos de café robusta provenientes de Angola Amboim (isenta de grãos com defeitos). Na separação, realizada manualmente, foram eliminados os grãos pretos, verdes, ardidos, manchados, enrugados, esponjosos, quebrados e brocados. Foi realizada uma moagem num moinho de martelos MIAG, cujas partículas passaram por um crivo de modo a apresentarem uma granulometria inferior a 425 µm. A amostra de café verde moído foi submetida a secagem numa estufa *Heraeus*, a 140 °C, durante 10 minutos, para remoção da humidade e modificação da tonalidade para um tom mais dourado (figura 3.5). Foi armazenado num frasco de vidro hermeticamente fechado e armazenado. Este produto é assim o resultado de um café verde minimamente processado.

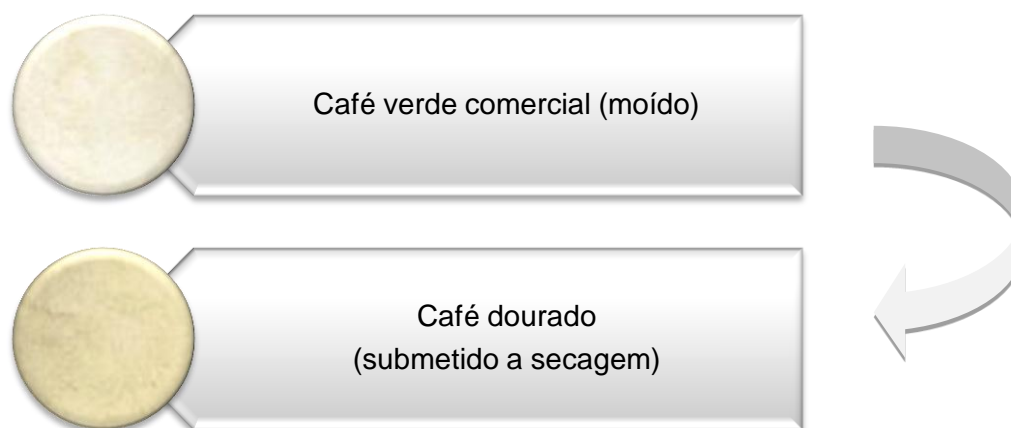


Figura 3.5 – Processamento do café dourado.

3.2.1.4. Seleção e moagem da pele de prata

Selecionou-se a pele de prata, que se apresentava limpa e inteira, expelida dos grãos durante a torra. A moagem foi realizada num moinho *MIAG*, até passagem total por um crivo de malha correspondente a 425 μm . Foi armazenada segundo o mesmo procedimento descrito para o café dourado.

3.2.1.5. Preparação de ingredientes a testar – Cacau, cardamomo, gengibre, alecrim e alho

O cacau em pó foi adquirido com moagem fina, sendo a sua passagem total num crivo de malha correspondente a 180 μm . O gengibre, o alho e as folhas de alecrim foram cortados em tiras muito finas e expostos em tabuleiros individuais; seguiu-se a secagem em estufa e posterior arrefecimento à temperatura ambiente. Estas amostras foram moídas separadamente em almofarizes até ficarem em pó (figura 3.6). A armazenagem foi idêntica à do café dourado e da pele de prata moída.



Figura 3.6 – Ingredientes testados na formulação do *blend*

3.2.1.6. Incorporação, homogeneização e moagem das matérias-primas na formulação do *blend* final

As matérias-primas café verde moído, pele de prata moída, cacau e café torrado em grão foram homogeneizadas e moídas com um moinho de facas, para obtenção de uma moagem fina característica para bebidas de café expresso. O procedimento para verificação e acerto da moagem foi realizado com base numa definição prévia das percentagens de ingredientes, que se pretendia testar, bem como a conjugação da granulometria desses ingredientes com a dos cafés torrados. Em seguida, os ingredientes foram pesados até se obterem 100 g de produto e posteriormente procedeu-se à sua moagem. Seguiu-se a pesagem de 7 g da formulação e a extração numa máquina de café expresso para um copo de precipitação de 50 mL. A extração foi efetuada conforme representado na figura 3.7. A extração ideal, alcançada por tentativas de diferentes moagens, encontra-se representada na figura 3.8.

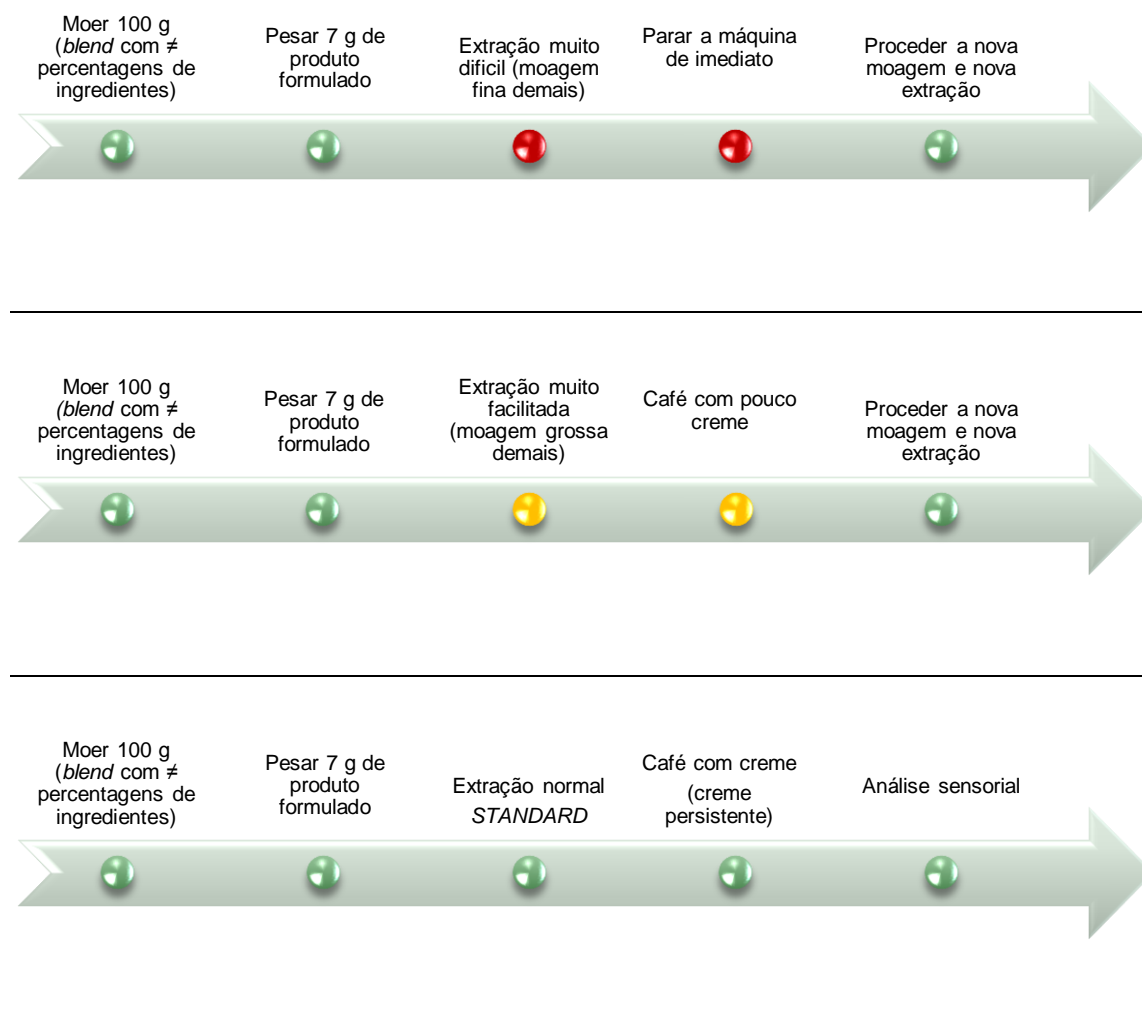


Figura 3.7 – Fluxo de procedimentos de moagem e extração das fórmulas preparadas.



Figura 3.8 – Representação das 3 extrações, a envolvida por uma elipse é considerada a “*STANDARD*”.

3.2.1.7. Embalagem do *blend* final

Foram moídos e homogeneizados 3 kg do *blend* final correspondente à melhor formulação obtida na análise sensorial e após acerto da moagem. Foram acondicionadas em cápsulas na linha de produção (figura 3.9 A) e em embalagens com capacidade para 250 g, com válvulas desgaseificadoras, embaladas na linha de produção e fechadas com selagem automática de modo a não permitir a entrada de oxigénio e permitir a saída de dióxido de carbono (figura 3.9 B).

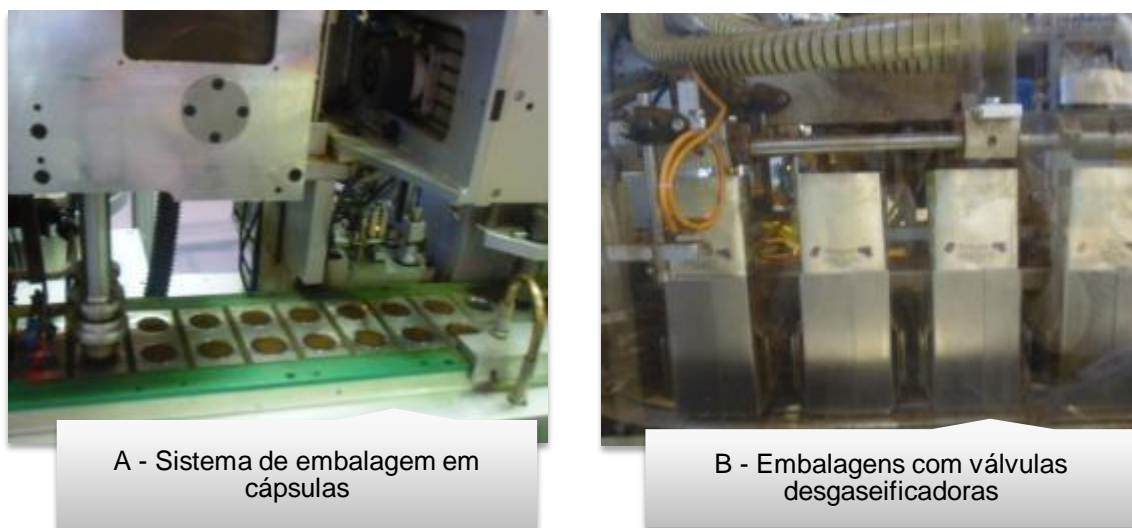


Figura 3.9 - Sistema de embalagem do *blend* final em cápsulas e em embalagens de 250 g.

3.2.1.8. Extração das bebidas de café expresso

A bebida de café expresso foi a selecionada para o estudo uma vez que é a mais apreciada e consumida pela população portuguesa. A água utilizada para análise da bebida foi destilada previamente. Para a análise sensorial recorreu-se à utilização de água mineral.

Para a extração de bebidas de café expresso na máquina “ESPRESSO” *Briel Riviera ES45* (figura 3.10), com uma bomba de 15 bar e uma caldeira de 800 W, foram seguidas as instruções do respetivo manual. Em cada extração recolheram-se 25 mL de bebida, utilizando 7 g de café moído, que foi introduzido no filtro *Cremaker®™*, com pesagem prévia numa balança analítica e subsequente compactação.

O procedimento de extração de café expresso na máquina de café expresso profissional **La Cimbali M27** (figura 3.10) foi efetuado de acordo com os procedimentos usuais dos operadores da restauração. Foram introduzidos 7 g de café no porta-filtros e o procedimento foi idêntico ao realizado aquando da utilização da máquina *Briel*.

A extração da bebida através da máquina de café expresso, com sistema de cápsulas *Delta Q* da marca **Qool by Brasília**, com uma pressão de 15 bar e uma potência de 1200 W, foi realizada

através da introdução da cápsula no porta-cápsulas, também com recolha de 25 mL da bebida. As bebidas foram recolhidas em duplicado ou em triplicado consoante as análises efetuadas.



Figura 3.10 - Diferentes máquinas utilizadas nos ensaios: *Briel - ESPRESSO Briel Riviera ES45; DQOOL – QOOL By Brasília e La Cimbali – La Cimbali M 27* (da esquerda para a direita).

Testes de cápsulas com diferentes percentagens de cacau na máquina *DQOOL*

Algumas formulações foram também testadas nas cápsulas para verificação da extração da bebida. Utilizou-se uma moagem universal / média (i.e., 6), correspondente ao moinho de controlo de qualidade. As formulações foram as seguintes: C 2.5 – café + 2,5 % cacau; C 5 – café + 5 % cacau; C 10 – café + 10 % cacau e C 15 – café + 15 % cacau. Na figura 3.11 encontra-se representado o procedimento efetuado e as diferentes bebidas resultantes.

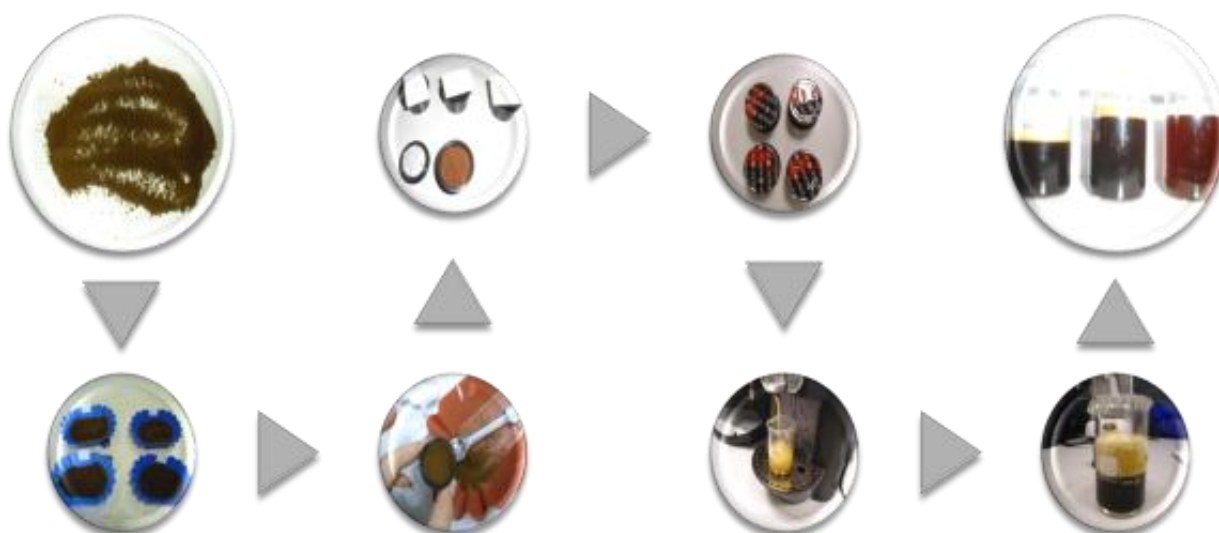


Figura 3.11 - Procedimento de preparação das cápsulas e extração das bebidas.

A formulação final correspondente ao *blend* final também foi testada e acondicionada em cápsulas, para extração em máquinas *DQOOL* para posterior análise da bebida. Foram pesados 6 g do *blend* final para cada cápsula vazia, numa balança analítica, e compactadas. As cápsulas testadas foram hermeticamente fechadas na linha de produção (figura 3.9). A tabela 3.3 apresenta a codificação

correspondente às amostras do *blend* final BF e respetivos controlos a partir das extrações nas máquinas domésticas *Briel* e *DQOOL* e na profissional *La Cimbali*.

Tabela 3.3 - Amostras de café e respetivas máquinas de extração das bebidas.

AMOSTRAS \ MÁQUINAS	<i>BRIEL</i>	<i>DQOOL</i>	<i>LA CIMBALI</i>
DCH	DCHBriel	-----	DCHLaCimbali
BF	BFBriel	BFQOOL	BFLaCimbali
QAL	----	QALQOOL	-----

3.2.1.9. Análise sensorial e provas hedónicas

3.2.1.9.1. Testes preliminares da associação do café com diferentes ingredientes

Os testes de aprovação dos *flavours* (figura 3.12), foram realizados por 7 consumidores, no laboratório do Centro de Ecofisiologia, Bioquímica e Biotecnologia Vegetal (ECO-BIO) pertencente ao Instituto de Investigação Científica Tropical (IICT), em Oeiras, durante os meses de Agosto e Setembro de 2010. Estes testes tinham como objetivo encontrar *flavours* com avaliação positiva entre os ingredientes acima mencionados e em diferentes composições – foram assim testadas diferentes formulações de café com diferentes ingredientes. Cada formulação foi identificada com um código de amostra. O café padrão utilizado nestes ensaios foi o DCH. O teste consistiu na aprovação ou reprovação das amostras. As amostras foram preparadas através da adição de 100 mL de água quente a 7 g de cada formulação. As amostras foram filtradas, introduzidas em copos descartáveis previamente identificados e testadas. Foi fornecido a cada consumidor um copo de água mineral e bolachas de água e sal.

TESTE DE APROVAÇÃO DE FLAVOUR

Nome: _____ Data: ____/____/____

Código da amostra: Aprovado ☐ Reprovado ☐

Comentários: _____

Código da amostra: Aprovado ☐ Reprovado: ☐

Comentários: _____

Figura 3.12 - Ficha utilizada nos ensaios preliminares do *blend* final.

3.2.1.9.2. Provas hedónicas – Teste de consumidor

O interesse nas respostas dos consumidores mediante aplicação de escalas hedónicas cresceu de forma acentuada nos últimos anos, quer através da utilização de testes psicofísicos básicos, quer na investigação aplicada visando a correspondência entre a interface consumidor e alimentos. Tal acabou por resultar no desenvolvimento de novos métodos de escala hedónica e na readaptação de outros [197]. Neste contexto, procedeu-se à realização de testes de consumidor com base numa escala hedónica. As amostras foram avaliadas por consumidores de café cujo único critério de seleção foi “ser consumidor de café e naturalmente gostar de café”. Utilizou-se uma escala hedónica de nove pontos em que o consumidor expressou a sua aceitação pelas diferentes bebidas de café, seguindo uma escala previamente estabelecida, que variou gradativamente com base nos termos “detesta” ao “gosta extremamente”, indicada pelo *US Army* [198], conforme se exemplifica na tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Escala hedónica de 9 pontos desenvolvida pelo *US Army*.

Critério	Classificação
Detesta	1
Não gosta	2
Não gosta moderadamente	3
Não gosta ligeiramente	4
Não gosta nem desgosta	5
Aceitável (gosta ligeiramente)	6
<i>Standard</i> (gosta moderadamente)	7
Gosta muito	8
Gosta extremamente	9

Foram realizadas várias avaliações, em diferentes datas, com diferentes formulações e diferentes consumidores (do ECO-BIO / IICT, Oeiras e da Novadelta).

O princípio do teste foi o mesmo em todas as provas realizadas. Foram preparadas diferentes amostras, no máximo 3 em cada prova. No laboratório do ECO-BIO / IICT as bebidas foram extraídas por filtração, enquanto na Novadelta o foram através de máquina de café expresso profissional.

Ensaio de outubro de 2010

As provas de análise sensorial foram realizadas de acordo com os procedimentos utilizados pela empresa, ainda que com algumas adaptações. Numa etapa inicial pretendeu-se verificar qual dos três *blends* de café descritos anteriormente em 3.2.1.2 apresentava parâmetros mais apreciáveis quando era adicionado o cacau. Foram preparados para cada provador quatro cafés expresso correspondentes à codificação da tabela 3.5. A moagem utilizada foi a média / grossa, realizada no moinho de controlo de qualidade, para facilitar a extração do cacau para a bebida.

Tabela 3.5 - Formulações de café com cacau.

Codificação	Blend	Cacau (%)
Amostra 1	<i>Blend 1</i>	5
Amostra 2	<i>Blend 2</i>	5
Amostra 3	<i>Blend 3</i>	5
Amostra 4 (controlo)	<i>Blend 2</i>	-

Formulação do *blend* para café expresso (teste de consumidor)

Selecionaram-se três amostras para aferir as preferências do consumidor como indicado na tabela 3.6. As amostras A e B foram sujeitas a uma moagem universal (expresso) enquanto a C foi sujeita a uma moagem grossa.

Tabela 3.6 - Formulações realizadas para teste de consumidor

Codificação	Blend	Cacau (%)
Amostra A	Lote O	-
Amostra B	<i>Blend 3</i>	-
Amostra C	<i>Blend 3</i>	10

Lote O: lote de café torrado comercializado no mercado com sucesso e bastante apreciado pelo consumidor português; *Blend 3* – *blend* selecionado pelo painel de provadores e consumidores que realizaram o teste de classificação.

Ensaio de novembro de 2010

Foi realizado um teste de consumidor com duas amostras (**Amostra A21** - *Blend* selecionado constituído por 95 % de café *standard* lote O, 3 % cacau e 2 % pele de prata; **Amostra Z21** - 100 % lote *standard* O). Um painel de 28 consumidores realizou as provas em condições habituais ao seu consumo e classificaram as amostras numa ficha de prova em concordância com os diferentes critérios de aceitação referidos na tabela 3.4. Na ficha de prova, para além da qualidade global, frequência de consumo e os dados correspondentes às características sócio demográficas, também se verificou como é habitualmente efetuada a ingestão de café (se com açúcar, com adoçante ou outro ingrediente ou sem qualquer ingrediente adicionado).

Ensaio de dezembro de 2010

Foram realizados novos testes de consumidor no ECO-BIO / IICT, com o *blend* formulado (96 % *blend 3*; 3 % cacau; 2 % pele de prata e 1 % café dourado) e duas amostras adquiridas no mercado ricas em antioxidantes: café do mercado constituído por café torrado e pele de prata, acondicionado em pastilha (TSS) e café do mercado rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina (AS).

3.2.1.9.3. Análise descritiva quantitativa

Os ensaios realizados em Fevereiro de 2011, correspondentes ao desenvolvimento do produto final consistiram numa análise descritiva quantitativa do *blend* formulado (96 % café torrado, dos quais 70 % robusta e 30 % arábica, 3 % cacau, 2 % pele de prata e 1 % café dourado) pelo painel de provadores da Novadelta, que classificaram as características organoléticas do produto aplicando

uma escala de 1 a 5. A metodologia para a caracterização do produto final foi a usualmente utilizada pelos provadores. Essa metodologia é baseada na norma ISO 4121:2003 [199]. A bebida preparada foi o café expresso, tendo-se pesado previamente 7 g do *blend*, com extração em máquina de café expresso profissional Brasília, para copos de plástico descartáveis. Na Novadelta as provas foram realizadas num laboratório de Análise Sensorial, segundo requisitos propostos na norma ISO 8589:1988 [200].

3.2.2. Métodos para análise das amostras de café verde (comercial) – Características físicas e tecnológicas – Controlo de qualidade

3.2.2.1. Exame olfativo e visual

Assumiu-se, como referencial, a norma NP 1795:1989 [201], correspondente ao exame olfativo e visual do café verde. No âmbito desta norma, o exame olfativo consistiu na inalação da amostra após abertura do recipiente que a contém. O resultado da amostra é considerado “normal” quando o aroma do café é característico, não se detetando nenhum cheiro desagradável ou estranho ao café, e seria “anormal” caso fossem detetados cheiros não característicos do café. O exame visual consistiu na introdução da amostra numa superfície preta, lisa e uniforme, sob luz natural e na verificação da origem botânica, o tipo de processamento, a cor dominante e a respetiva uniformidade.

3.2.2.2. Classificação com base nos corpos estranhos e defeitos

A análise dos corpos estranhos e defeitos foi realizada com base na norma ISO 10470:2004 [202]. Espalharam-se 100 g de grãos de café verde numa superfície lisa e preta e separaram-se os grãos defeituosos dos grãos saudáveis. Os padrões para o cálculo dos defeitos e matéria estranha basearam-se nas especificações da norma referida (Tabela de Referência dos Defeitos do Café Verde) conforme a norma ISO 10470:2004 [202] e sua aplicação, segundo a norma ISO 4149:2005 – Café Verde: exame olfativo e visual da matéria estranha e defeitos [203] recomendado pela ICO [204].

As unidades e a percentagem em massa dos grãos defeituosos e matéria estranha foram registadas e pontuadas de acordo com a Resolução 420/04 (21/05/04), da ICO [205]. Os grãos pretos, verdes e ardidos foram agrupados em percentagem de PVA.

3.2.2.3. Análise granulométrica

A análise granulométrica às diferentes amostras de café verde baseou-se na metodologia proposta na norma NP 1636:1981 [206] equivalente à ISO 4150:1991 [207] e nos procedimentos relativamente ao crivo que reteve a maior percentagem de grãos, de acordo com Esteves e Oliveira [208]. Os ensaios foram realizados em triplicado para cada amostra. A massa das tomas utilizadas foi de 100 ±1 g. Recorreu-se a um jogo de crivos ASTM nº (10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20) com furos redondos, conforme indicação da norma NP 1636:1981[206], porque são amostras de grão chato. Os crivos foram dispostos sobre o recetáculo e a amostra foi colocada no crivo n.º 20; agitou-se suavemente à mão durante três minutos, efetuando um movimento basculante. Pesou-se a fração retida em cada crivo e no recetáculo, com uma aproximação de 0,1 g. Determinou-se a

homogeneidade comercial que é dada pela percentagem máxima de café retido em dois crivos de números consecutivos, durante o ensaio [208].

Por fim determinaram-se os teores de grão graúdo, médio e miúdo, de acordo com a Instrução n.º 8 de 11/6/03. Esta considera como grão chato graúdo aquele que fica retido nos crivos 19, 18 e 17; como grão chato médio aquele que fica retido no crivo 16 e 15; como grão chato miúdo aquele que fica retido nos crivos 14 e menores.

3.2.2.4. Massa de 1000 grãos

Foi determinada a massa de 1000 grãos de acordo com procedimentos elaborados por Esteves e Oliveira [208], com algumas adaptações [209]. Para o efeito foram pesados 100 grãos de café verde. Estes resultados foram extrapolados para comparação com outros ensaios realizados.

3.2.2.5. Determinação da perda de massa por secagem

A determinação da perda de massa por secagem foi realizada de acordo com a norma NP1794:1988 [210] que consistiu numa secagem dos grãos de café verde em estufa, durante 16 horas, a uma temperatura de 103 ± 2 °C, arrefecidos em exsiccador e pesados em balança analítica. As amostras foram novamente para a estufa durante 1 hora, arrefecidas em exsiccador e pesadas. O procedimento repetiu-se até obtenção de uma massa constante.

3.2.3. Café torrado – Características físicas, tecnológicas e químicas

3.2.3.1. Massa volúmica aparente por compactação

Este ensaio foi realizado de acordo com a NP 2286:1991 [211], com algumas adaptações. Após a torra procedeu-se a uma moagem universal dos grãos de café. Pesaram-se 100g de café moído e transferiram-se para uma proveta introduzida num aparelho de compactação. Após 400 batimentos verificou-se o volume ocupado pelo produto. O ensaio foi efetuado em duplicado para cada café torrado.

$$\text{Massa volúmica aparente por compactação} = \frac{m}{V}$$

m – massa, em gramas, do café torrado e moído introduzido na proveta.

V – volume, em cm³, ocupado pelo produto após compactação.

3.2.3.2. Aumento de volume

Este ensaio consistiu na verificação do aumento do volume do grão de café após ser submetido às diferentes condições de torra. O aumento do volume foi efetuado numa proveta, onde a amostra foi introduzida verde e posteriormente torrada, de modo a quantificar o volume ocupado pela mesma [36].

$$\text{Aumento do volume (\%)} = \frac{(V_t - V_v) \times 100}{V_v}$$

V_v – Volume preenchido pela amostra de café verde.

V_t – Volume preenchido pela amostra de café torrado.

3.2.3.3. Perda de massa na torra

Poderão ser vários os fatores que influenciam a perda de massa na torra. Foi verificada a percentagem de perda de massa por diferença da massa do café verde e do café torrado. Foram pesados 100 grãos de café verde e 100 grãos de café torrado. Por diferença obteve-se a perda de massa.

$$\% \text{ de perda de massa} = \text{massa de café verde} - \text{massa de café torrado}$$

3.2.3.4. Moagem das amostras para análise química

Este processo representa uma parte determinante na análise química, pois quanto mais pequenas se apresentarem as partículas resultantes da moagem do café, maior será a extração dos componentes a analisar.

Foram verificadas as moagens utilizadas e sugeridas por vários autores, perspetivando-se a utilização de uma moagem que permite a passagem por um crivo de malha correspondente a 0,75 mm [60, 212] e crivos de malha correspondente a 0,46 mm [119, 213]. Consideraram-se ainda as moagens apresentadas nas normas portuguesas [214] para a preparação de amostras que referem que as amostras de café devem ser moídas até passagem total por um crivo de 1 mm de abertura de malha.

As amostras foram submetidas a uma moagem num moinho de martelos *MIAG*, dimensionada a um escoamento total através de um crivo ASTM nº 40 (abertura 0,425 mm) para o café verde, torrado e *blends*, incluindo a formulação de café otimizada após verificação das moagens e dos crivos existentes. Estas amostras, após moagem, foram acondicionadas em frascos de *Schott*, devidamente fechados e armazenados até à realização das análises. As amostras adquiridas moídas (amostras provenientes do mercado português) foram analisadas com o grau de moagem que as caracterizava.

3.2.3.5. Teor de humidade

O teor em humidade foi determinado aferindo a perda de massa por secagem, de acordo com a norma NP 3659:1991 [215].

3.2.3.6. Determinação da cor

A análise da cor foi realizada com um colorímetro Minolta CR-300 (figura 3.13). As leituras foram realizadas para o iluminante D65. O equipamento foi calibrado com um azulejo branco, de coordenadas $y=93,12$, $x=0,316$ e $y=0,3326$ ou $L^*=97,21$, $a=-0,03$ e $b=1,97$. O procedimento para análise das amostras de café torrado consistiu numa moagem dos cafés para uma granulometria inferior a 0,425 mm e posterior análise com o colorímetro sobre a amostra compactada utilizando um vidro anti-reflexo.



Figura 3.13 - Colorímetro Minolta CR-300 e respectivas amostras a analisar (creme de café, bebida de café e café torrado moído).

As coordenadas cromáticas foram determinadas através da utilização do sistema CIELab, utilizando L^* , luminosidade que varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* (- verde; + vermelho) e b^* (- azul; + amarelo). As três dimensões CIE $L^* a^* b^*$ do espaço de cor representam as cores visíveis ao olho humano. As dimensões separam a luz ambiente, ou a luminosidade (L^*), num eixo vertical e a cromaticidade num plano horizontal xy [216]. No entanto, a cromaticidade pode ser melhor representada e discutida em termos das coordenadas polares, croma (C^*) e ângulo de cor (H°), que representam, respetivamente, a saturação de cor e a tonalidade (figura 3.14).

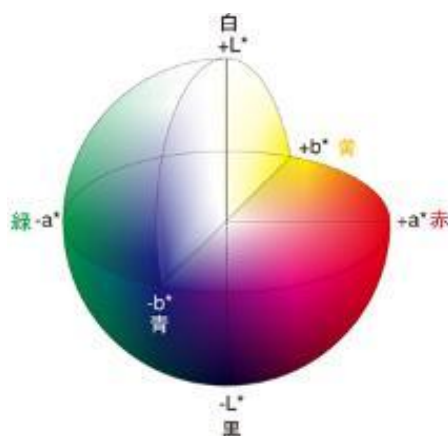


Figura 3.14 - Representação de um modelo de espaço colorimétrico CIELab [217].

A metodologia utilizada foi desenvolvida e adaptada a partir das coordenadas $L^*a^*b^*$, para exprimir a cor através de $L^*C^*H^\circ$, considerando L^* - luminosidade, C^* - “chroma” ou saturação e H° - tom (ou tonalidade ou matiz ou ângulo de tinta ou “hue angle”), sendo um indicador da variação da cor no plano formado pelas coordenadas a^* e b^* [218, 219].

A determinação destas grandezas realizou-se do seguinte modo:

- a saturação ou *Chroma* – C foi obtida recorrendo à equação $C^*=(a^2+b^2)^{1/2}$ [218, 220].

- o tom, H^0 foi obtido recorrendo à seguinte equação $H^0 = (\arctang(b/a) / 6,2832) \times 360$ (uma vez que $a > 0$ e $b \geq 0$) [220].

As diferenças de cor entre duas amostras, ΔE , podem ser dadas também através da avaliação da distância euclidiana entre dois pontos no CIE $L^* a^* b^*$ de espaço de cores. Este parâmetro é chamado de diferença de cor e pode ser calculado a partir da seguinte equação:

$$\Delta E = \sqrt{(L1^* - L2^*)^2 + (a1^* - a2^*)^2 + (b1^* - b2^*)^2}$$

Onde os subscritos 1 e 2 correspondem a diferentes pontos no espaço de cor. Os resultados para os cálculos da diferença da cor, são efetuados com base em medições de cor.

3.2.4. Matérias-primas, *blend* final, controlos, cafés do mercado português e bebidas de café expresso – características físico-químicas

3.2.4.1. Determinação da cor

Este ensaio foi realizado conforme descrito anteriormente. As medições foram realizadas para o café verde moído, pele de prata, cacau, bebidas de café do tipo expresso extraídas por diferentes máquinas de café (*DQOOL*, *Briel* e *La Cimbali*), bem como os respetivos cremes. O procedimento para análise das amostras sólidas consistiu na moagem das matérias-primas que constituíam o *blend* com granulometria inferior a 0,425 mm (cafés torrados, cacau, pele de prata e café verde); os cafés comerciais foram adquiridos moídos e analisados com a moagem que os caracterizava; estas amostras foram colocadas em placas de Petri com um vidro anti-reflexo em contato com a amostra e com o sensor do colorímetro.

As leituras para cada amostra foram efetuadas em triplicado. O procedimento para as amostras gasosas (creme do café) foram realizadas a partir de uma agitação vigorosa das amostras de café, onde se extraiu o creme para um vidro de relógio, tendo-se procedido à leitura após contato do creme com o vidro anti-reflexo e o sensor do colorímetro.

3.2.4.2. Medição do pH

A medição do pH foi realizada de acordo com as indicações descritas no procedimento 981.12-42.1.04 da AOAC com algumas adaptações [221].

Determinação do pH das matérias-primas do *blend* (pele de prata, café verde, café torrado e cacau)

A preparação das amostras de pele de prata e café verde consistiu na extração de 2 g da amostra, previamente moída, para 25 mL de água destilada. Efetuou-se um aquecimento sob agitação até ao ponto de ebulição. A amostra, após aquecimento, continuou em agitação e depois foi centrifugada e filtrada com um filtro *Whatman* n.º 2. O pH da solução de pele de prata e café verde foi medida à temperatura ambiente, com um medidor de pH (*Metrohm* modelo 744), previamente calibrado com soluções tampão a pH 4,0 e 7,0. As amostras foram analisadas em triplicado.

Determinação do pH das bebidas de café expresso

Foram preparados, pelo mesmo método de extração de café expresso para as diferentes máquinas DQOOL (cápsulas com 6 g de café) e máquina de café expresso *Briel*, várias bebidas de café expresso que foram extraídas até um total de 25mL e arrefecidas até à temperatura ambiente. O pH foi determinado na bebida extraída.

3.2.4.3. Sólidos solúveis

A determinação do teor de sólidos solúveis nas matérias-primas (café dourado, café torrado, pele de prata e cacau) e nas bebidas extraídas, foi baseada na metodologia proposta pela AOAC 973.21 – 30.1.21 [221], com algumas adaptações. Foram introduzidas num balão *Erlenmeyer* 5 g ($\pm 0,1$) mg da amostra, 100 mL de água, com fervura durante 5 minutos sob agitação magnética. Arrefeceu-se, verificou-se e ajustou-se a massa do *Erlenmeyer*. Filtrou-se através de filtro Whatman nº 1, e recolheu-se para uma cápsula tarada 25 mL do filtrado, que foi colocado num banho-maria até à secagem do resíduo. As cápsulas foram posteriormente colocadas numa estufa a 103 (± 2) °C e arrefecidas num exsiccador. Após pesagem repetiu-se o procedimento da secagem em estufa, com arrefecimento num exsiccador até massa constante.

Os resultados apresentados correspondem à média resultante dos ensaios realizados em duplicado. O teor de sólidos solúveis nas amostras sólidas foi expresso em % de massa, e no caso das bebidas de café expresso, em mg/mL.

3.2.4.4. Caracterização da granulometria das amostras de café torrado moído adquiridas no mercado e do *blend* final

Os diferentes tipos de moagens do café foram classificados em grossa, média e fina, com base na percentagem de partículas de café retidas nos crivos n.º 12 com abertura de 1,70 mm, n.º 16 com 1,18 mm, n.º 20 com 0,85 mm e n.º 30 com 0,60 mm, respetivamente [222].

Após alguns ensaios verificou-se que todas as amostras se enquadravam na moagem fina, cuja classificação poderia ser de “extremamente fina” para algumas amostras. Realizou-se ainda um segundo tipo de classificação que consistiu na utilização de crivos com uma abertura inferior, que variou entre 0,250 e 0,500 mm, para este tipo de amostras de café moagem máquina e para a análise do *blend* final (tabela 3.7).

Tabela 3.7 - Critérios de classificação da granulometria das amostras de café comercial adquiridas no mercado.

Amostras de café comercial	Massa retida (%)		
	0,5-1 mm	0,25 – 0,5 mm	Fundo (< 0,25 mm)

3.2.4.5. Determinação da perda de massa por secagem

A perda de massa foi determinada mediante secagem, de acordo com NP 3659:1991 [215].

3.2.4.6. Determinação da fibra insolúvel

Com a incorporação de pele de prata no *blend* proporcionou-se o aumento de fibra no produto e, por sua vez, pretendeu-se verificar a eficiência da extração com base na fibra insolúvel detetada na bebida. Esta determinação foi realizada com base na norma NP 2029:1994 [223], com algumas adaptações. Foram introduzidas 0,250 g de amostra num *Erlenmeyer* de 100 mL e adicionados 30 mL de H₂SO₄ (0,128 M), tapou-se com um funil e aqueceu-se durante 30 minutos após entrar em ebulição. Ao fim deste tempo adicionaram-se 30 mL de KOH (0,223 M) previamente aquecidos ao *Erlenmeyer* que continha a amostra, tendo permanecido sob aquecimento mais 30 minutos. A amostra foi arrefecida e após decantação foi removido o líquido que continha o material solúvel. O *Erlenmeyer* foi lavado com água à temperatura de 38 °C para recolher a totalidade das fibras. Este procedimento foi repetido até o pH não variar (pH 6). As fibras resultantes da amostra foram depositadas numa cápsula de porcelana, após arrastamento com água desionizada, e secas em banho-maria. Seguidamente foram a secar em estufa a 103 ± 2 °C, durante duas horas, arrefecidas até à temperatura ambiente no exsiccador e pesadas. O cadinho foi depois introduzido numa mufla e a amostra incinerada a 500 ± 50 °C, durante cerca de 3 horas. A mufla foi desligada, deixando-se arrefecer até aos 100 °C. O cadinho com o resíduo foi arrefecido no exsiccador até à temperatura ambiente, sendo depois pesado.

Calculou-se o teor em celulose bruta, expresso em % de massa da amostra original, usando a seguinte equação:

$$\% \text{ celulose bruta} = \frac{(G1 - G2)}{m} \times 100$$

em que:

G 1 – peso da cápsula de porcelana após estufa (g); G 2 – peso da cápsula de porcelana após mufla (g); m – massa de amostra (g).

A conversão da % celulose bruta, de base húmida para base seca, foi efetuada de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ celulose (matéria seca)} = \frac{\text{celulose(matéria húmida)}}{100 - \% \text{ humidade}} \times 100$$

3.2.4.7. Matéria gorda total e ácidos gordos

As amostras comerciais DCH, BF e QAL foram analisadas com a granulometria característica. As matérias-primas do *blend* final BF correspondentes à pele de prata, café dourado e café torrado CTBF (70 % café robusta e 30 % café arábica) foram analisados com uma granulometria inferior a 0,425 mm enquanto a granulometria do cacau era inferior a 0,180 mm.

3.2.4.7.1. Extração da matéria gorda total

Para extração da matéria gorda total foram pesadas 1 – 4 g das diferentes amostras e adicionaram-se 20 mL de n-hexano. Após agitação num *vortex* e, posteriormente, numa placa de agitação (durante 20 minutos), procedeu-se a uma centrifugação a 4000 rpm (20 minutos, a 4 °C). O n-hexano

contendo a gordura foi recolhido para um balão previamente tarado. A extração de cada amostra foi efetuada em triplicado. Após evaporação do n-hexano num rotavapor, o balão com a gordura foi para a estufa a 100 (\pm 5) °C até peso constante. Determinou-se o teor de matéria gorda total. A matéria gorda total foi ressuspensa em etanol / tolueno (1:4). O mesmo procedimento de extração da matéria gorda total foi efetuado para as bebidas após liofilização das mesmas.

3.2.4.7.2. Saponificação dos lípidos e metilação dos ácidos gordos

Para a extração dos ácidos gordos totais da matéria gorda retirou-se uma alíquota do extrato bruto, que foi saponificada para obtenção dos ácidos gordos, de acordo com o método descrito por Metcalfe *et al.* [224] com adaptações realizadas por Campos *et al.* [225]. Foram medidos 100 µL da amostra de lípidos totais e adicionados 4 mL de solução de hidróxido de sódio em metanol. A mistura, após agitação no *vortex*, foi aquecida em banho de água a 65 °C durante 15 minutos, para ativar a reação de saponificação. Seguidamente procedeu-se ao arrefecimento sob água fria corrente, para parar a reação de saponificação. Realizou-se então a metilação com a introdução de 100 µg do padrão interno (ácido heptadecanóico) e posterior adição de 2 mL de metanol-trifluoreto de boro. Após agitação no *vortex*, a mistura permaneceu 15 minutos no banho a 65 °C, sendo depois arrefecida com água corrente. Para a remoção dos ácidos gordos metilados adicionaram-se 10 mL de pentano e 2 mL de água desionizada. Após agitação num *vortex* e 1 h de decantação para separação das fases, a fase superior contendo os ácidos gordos metilados foi recolhida e seca em banho a 40 °C, sob corrente de azoto. O resíduo foi redissolvido em 600 µL de etanol / tolueno (1:4) e conservado a -30 °C. A amostra foi novamente seca numa corrente de azoto e ressuspensa em 100 µL de n-hexano para posterior análise por cromatografia gasosa.

3.2.4.7.3. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos gordos

Os ésteres metílicos de ácidos gordos foram analisados num cromatógrafo de gás (Varian CP-3380-GC, USA), equipado com um detetor de ionização de chama de hidrogénio. A separação foi realizada numa coluna capilar de sílica fundida (DB-Wax, J&W Scientific, EUA) de 30 m, com 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietileno glicol (Carbowax), com uma espessura de 0,25 µm. A temperatura da coluna foi programada para subir de 80 até 200 °C (12 °C min⁻¹), após 2 minutos à temperatura inicial. As temperaturas do injetor e detetor foram, respetivamente, 200 °C e 250 °C. O gás de arraste foi o hidrogénio com um fluxo de 1 mL min⁻¹ e uma razão de *split* de 1:50 da amostra. Os ácidos gordos foram identificados por comparação com padrões conhecidos (*Restek* e *Supelco*). O valor de ácidos gordos totais correspondeu à soma dos componentes dos ácidos gordos individuais. O tratamento dos cromatogramas foi efetuado através do *software Star Chromatography Workstation Version 6.41*.

A partir da percentagem dos ácidos gordos calculou-se o índice de insaturação. O teor de insaturação dos lípidos foi determinado com base no estabelecimento de uma ponderação para as percentagens dos ácidos gordos com 1, 2 ou 3 ligações duplas. Os somatórios desses ácidos gordos relacionam-se com o somatório dos ácidos gordos saturados, que não apresentam nenhuma ligação dupla, tal como proposto por Mazliak [226].

$$\text{Índice de Insaturação} = [(\% \text{ monoenos} + 2 \times \% \text{ dienos} + 3 \times \% \text{ trienos}) / \% \text{ saturados}]$$

3.2.4.8. Análise do teor de polifenóis totais e capacidade antioxidante

3.2.4.8.1. Preparação dos extratos

A metodologia foi adaptada de acordo com as diferentes matérias-primas (café dourado, pele de prata, cacau e café torrado), cafés sólidos e bebidas de café expresso, de modo a otimizar a extração dos compostos antioxidantes. Pesou-se 1 grama de amostra para um tubo resistente a solventes, adicionaram-se 10 mL de acetona a 70 %, envolveu-se com papel de alumínio para permanecer no escuro e foi a agitar durante 2 horas numa placa de agitação magnética à temperatura ambiente. Centrifugou-se durante 20 minutos, a 4000 rpm e a 18 °C. Filtrou-se com um filtro de papel *Whatman* 3. As diluições foram realizadas de acordo com os extratos e por experimentação. A pele de prata não foi diluída. Num *vortex* procedeu-se à agitação de 0,250 mL do extrato de café torrado com 4,75 mL de acetona a 70 %, bem como as restantes amostras nas respetivas diluições (café solúvel NG diluição 1:50; café dourado e cacau 1:20). As diluições dos extratos para a determinação da capacidade antioxidante pelo método DPPH diferiram nos cafés BF, DCH e QAL cuja diluição foi de 1:50 e nos cafés NG (solúvel) e AS com diluições de 1:100.

3.2.4.8.2. Determinação do teor de polifenóis totais

Os teores de fenóis totais dos extratos das amostras foram determinados utilizando o método de *Folin-Ciocalteu* [227], com algumas adaptações. Os extratos foram diluídos até obtenção de uma absorvência na faixa da curva de calibração preparada com ácido gálico. Foram introduzidos num tubo com capacidade para 15 mL, 0,250 mL do extrato diluído da amostra, 0,250 mL de reagente *Folin-Ciocalteu*, 5 mL de Na₂CO₃ (75 g / L) e 7 mL de água desionizada. Preparou-se um branco com água desionizada, utilizando o mesmo procedimento. As amostras permaneceram durante 1 hora em local escuro e a absorvência foi medida a um comprimento de onda de 750 nm num espectrofotómetro UV – VIS, Shimadzu UV-1800. O cálculo do GAE (equivalente em ácido gálico) de cada composto foi realizado utilizando a curva de calibração de ácido gálico (tabela 3.8).

Tabela 3.8 – Curva de calibração: absorvência a 750 nm em função da concentração de ácido gálico (g/L)

Método de determinação dos polifenóis totais	Equação ^a	Coefficiente de correlação (R ²) (n=6)
<i>Folin-Ciocalteu</i> (750 nm)	$y = 1,8876x - 0,0337$	0,994

^a $y = a + b x$, sendo y a absorvência e x a concentração de ácido gálico.

3.2.4.8.3. Determinação da capacidade antioxidante

Método ABTS

O radical livre ABTS^{•+} azul esverdeado é utilizado para verificar a capacidade antioxidante do ácido ascórbico em diferentes concentrações, para realizar uma curva de calibração e posteriormente verificar a capacidade antioxidante das amostras adquiridas. A determinação da capacidade antioxidante foi efetuada de acordo com procedimentos realizados por Gião *et al.* [228]. A solução

concentrada de ABTS^{•+} foi preparada através da adição, na razão 1:1 (v / v), de 7 mM ABTS (ácido 2,2-azinobis (3 etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) sal diamônio para uma solução de 2,45 mM de persulfato de potássio. A reação ocorreu durante 16 horas à temperatura ambiente e na ausência de luz. Esta solução foi diluída em água ultrapura até obtenção da absorvência $0,700 \pm 0,020 \text{ \AA}$, a 734 nm, medida num espectrofotômetro UV – VIS, Shimadzu UV-1800. Foram retirados 20 µL da amostra e analisou-se a percentagem de inibição (entre 20 % e 80 %, para garantir uma resposta linear do método analítico), após 6 minutos de reação com 1 mL da solução diluída de ABTS^{•+}. As análises de cada amostra foram realizadas em triplicado e foram calculadas de modo a formar um ponto de referência. O resultado final foi expresso em concentração equivalente de ácido ascórbico (mg VCEAC/g), utilizando uma curva de calibração.

Método DPPH

O estudo de remoção do radical DPPH[•] foi realizado de acordo com o método descrito por Brand-Williams *et al.* [229] com algumas modificações. O radical DPPH[•] sofre redução pelos antioxidantes, com mudança de coloração violeta para amarela, proporcional à concentração da substância redutora da amostra. Assim, preparou-se uma solução de DPPH com 0,0039g em 100mL de acetona a 70% que se diluiu numa proporção de 1:2 para que a absorvência se situasse na faixa de $0,500 \pm 0,040$, correspondente à solução controlo. Em tubos de vidro rolhados foram introduzidos 3,9 mL da solução de DPPH, diluída com 0,100 mL de extrato, e agitou-se num *vortex*, permanecendo em repouso no escuro à temperatura ambiente durante 30 minutos. A absorvência foi lida a 515 nm, utilizando-se um branco com acetona a 70% e um controlo com o DPPH diluído (absorvência: $0,500 \pm 0,040$). As análises de cada amostra foram realizadas em duplicado, com repetição das réplicas e calculadas de modo a formar um ponto de referência. O resultado final foi expresso em concentração equivalente de ácido ascórbico (mg VCEAC/g), utilizando uma curva de calibração.

Cálculo da capacidade antioxidante equivalente em vitamina C (VCEAC)

A curva de calibração da vitamina C relaciona a concentração de vitamina C com a redução da respetiva absorção, obtida através do ensaio VCEAC e utilizando o radical livre ABTS^{•+} (tabela 3.9).

Tabela 3.9 - Curva de calibração: absorvência da percentagem de inibição a 734 nm e 515 nm em função da concentração de ácido ascórbico (g/L).

Método de atividade antioxidante	Equação ^a	Coefficiente de correlação (R ²) (n=6)
ABTS (734 nm)	$y = 431,74x + 1,983$	0,999
DPPH (515 nm)	$y = 468,08x + 3,9216$	0,993

^a $y = a + b x$, y = absorvência da percentagem de inibição; x=concentração de ácido ascórbico.

Nas diferentes amostras efetuou-se a redução da absorvência, a 734 nm e 515 nm, pelos métodos ABTS e DPPH, respetivamente. Quanto maior o valor VCEAC do composto de ensaio, mais eficazes são os antioxidantes [230]. O cálculo do VCEAC de cada composto considerou a curva de calibração da vitamina C (equação da tabela 3.9):

$$\text{mg VCEAC/g} = \frac{(\Delta \text{Abs} - y)}{b}$$

y : Interceção da curva de calibração do ácido ascórbico;

b: declive da curva de calibração do ácido ascórbico;

Δ Abs: diferença entre a absorvência inicial do controlo (radical livre sem o extrato) e a absorvência resultante da amostra testada (Método ABTS: 6 min, 734 nm; Método DPPH: 30 min, 515 nm).

3.2.4.9. Peroxidação lipídica

O malonaldeído (MDA) é um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos gordos polinsaturados, formado durante o processo oxidativo. O malonaldeído é um dialdeído de 3 carbonos, com grupos carbonilos nos carbonos C-1 e C-3 [231]. O MDA é formado em quantidade significativa durante a peroxidação lipídica das biomembranas, o que faz deste um indicador muito importante da ocorrência de *stress* oxidativo. De referir também o seu envolvimento na diminuição do metabolismo normal da glucose em indivíduos com obesidade [137].

A peroxidação lipídica do *blend*, e respetivas matérias-primas, foram avaliadas através da quantificação de malonaldeído (MDA) pelo teste de TBA (ácido tiobarbitúrico) [232].

Maceraram-se 100 mg de amostra com 1 mL de TCA e centrifugou-se a 13000 g, durante 10 minutos e a 4 °C. Retiraram-se 250 µL de amostra e juntaram-se 750 µL de TBA (0,5 %, realizada com TCA a 20 %). Foi realizado um branco com 250 µL de TCA (0,1 %) e 750 µL de TBA. As amostras foram incubadas a 90 °C, durante 20 minutos. A reação terminou com a adição de gelo e o volume foi corrigido para 1 mL com água desionizada. Posteriormente, centrifugou-se a 10000 g, durante 5 minutos, a 4 °C. As leituras da absorvência foram verificadas num espectrofotómetro UV – VIS, Shimadzu UV-1800. A quantidade de MDA foi calculada a partir da absorvência a 532 nm, depois de se subtrair a absorção não-específica a 600 nm. Foi utilizado o coeficiente de absorvidade para 155 mM cm⁻¹ MDA.

3.2.4.10. Determinação dos teores de cafeína, trigonelina e teobromina

O método para determinação do teor de cafeína, trigonelina e teobromina considerou os procedimentos da norma ISO 10095: 1992 [233], com algumas adaptações. O método de extração foi desenvolvido a partir da homogeneização em banho a 90 °C, de 0,2 g de amostra, 1 mg de óxido de magnésio e 20 mL de água desionizada, durante 20 minutos. A conservação da massa foi verificada por pesagem e filtrou-se com um filtro *Whatman* nº 1. Após homogeneização, filtrou-se com um filtro 0,45 µm. As bebidas de café expresso foram diluídas numa proporção de 1:5, filtradas, homogeneizadas e filtradas novamente com um filtro de 0,45 µm. As amostras foram injetadas posteriormente num cromatógrafo Beckman System Gold, equipado com detetor de fotodiodos, modelo 168, sistema de solventes (bomba) modelo 126, de uma coluna Waters Spherisorb ODS2, 5 µm (250 x 4,6 mm) e tratamento de dados pelo Software 32 Karat™, versão 8,0, Beckman Coulter, Inc. A fase móvel foi constituída por uma solução tampão de fosfato 0,02 M e acetonitrilo numa proporção de 9:1, com um fluxo de 1 mL min⁻¹; a temperatura da coluna era de 25 °C e o comprimento de onda de 254 nm. Foram injetados 20 µL dos extratos preparados, após estabilização da temperatura e do fluxo da fase móvel. As concentrações de cafeína, trigonelina e teobromina nas amostras foram quantificadas com base nas curvas de calibração realizadas (tabela 3.10), cujas

concentrações variaram entre 1 e 0,02 g / L para a cafeína e 0,5 e 0,01 g / L para os outros alcaloides e trigonelina.

Tabela 3.10 - Curvas de calibração da trigonelina, ácido nicotínico, teobromina, teofilina e cafeína.

	tR (min)	Equação	Coefficiente de correlação (R ²) (n=8)
Trigonelina	2,6	$y = 4012227,420x + 58,593$	R ² = 0,999
Ácido nicotínico	3,2	$y = 6285525,655x - 10753,144$	R ² = 0,999
Teobromina	6,9	$y = 7509237,711x + 964,079$	R ² = 0,997
Teofilina	9,7	$y = 7679529,835x + 3531,311$	R ² = 0,997
Cafeína	19	$y = 6579151,245x - 7660,048$	R ² = 0,994

tR- tempo de retenção aproximado em minutos.

As extrações foram realizadas em duplicado e as análises cromatográficas em quadruplicado. Os resultados foram expressos em % para as amostras sólidas. No caso das bebidas foram expressos em mg/mL.

3.2.4.11. Determinação do teor de ácidos clorogénicos

A determinação dos ácidos clorogénicos nas amostras foi determinada com base na metodologia da AOAC [234], com algumas adaptações. Esta metodologia baseia-se no princípio proposto por Trugo e Macrae [235] e adaptado por outros autores [36, 48, 236].

Pesaram-se 2 g de amostra, que foram subsequentemente introduzidas num tubo de centrífuga, juntamente com 10 mL de solução metanol/água (40/60, v/v) e procedeu-se a uma agitação mecânica durante 30 minutos, numa placa de agitação. Posteriormente efetuou-se uma centrifugação durante 15 minutos a 5000 rpm e 25 °C. As amostras de café dourado e torrado foram decantadas para balões de 50 mL, enquanto que as amostras de pele de prata foram decantadas para balões de 25 mL. A extração foi repetida três vezes e o extrato foi introduzido no balão. Seguidamente, as amostras foram clarificadas com 1 mL de cada reagente de Carrez (Carrez I – solução aquosa de acetato de zinco di-hidratado e ácido acético glacial; Carrez II – solução aquosa de hexacianoferrato II de potássio tri-hidratado). Completou-se o volume do balão com a solução metanol / água (40/60, v/v). A amostra permaneceu em repouso durante 15 minutos e depois foi filtrada com um filtro *Whatman* nº 1 e, antes de ser injetada, no cromatógrafo foi filtrada com um filtro de 0,45 µm. O procedimento realizado para a determinação dos ácidos clorogénicos na bebida de café expresso consistiu na introdução de 20 mL da bebida num balão volumétrico de 50 mL, adição de 1 mL de Carrez I, 1 mL de Carrez II e acerto à marca com metanol/água (40/60, v/v). A solução manteve-se em repouso durante 15 minutos e depois foi filtrada com um filtro *Whatman* n.º 1 e antes de ser injetada foi filtrada com um filtro de 0,45 µm. Foram injetados 20 µL do extrato no cromatógrafo Beckman System Gold, equipado com detetor de fotodíodos, modelo 168, sistema de solventes (bomba) modelo 126, numa coluna Waters Spherisorb ODS2, 5 µm (250 x 4,6 mm) e os dados tratados pelo Software 32 Karat™, versão 8,0, Beckman Coulter, Inc. A fase móvel foi constituída pelo solvente A, que correspondia a uma solução tampão de citrato tripotássico (10mM e pH 2,5), e a

solução B, metanol a 100 %. O programa do gradiente de eluição foi o que se apresenta na tabela 3.11, o fluxo de 1mL / minuto e a detecção a 325 e 330 nm.

Tabela 3.11 - Programa de gradiente de eluição adotado para separação dos ácidos clorogénicos no café verde [36, 219].

Tempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0	80	20
5	80	20
10	75	25
15	70	30
20	60	40
25	55	45
30	50	50
35	40	60
40	30	70
45	80	20

Procedeu-se à isomerização do ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) de modo a confirmar o tempo de retenção dos isómeros (3-CQA e 4-CQA). Pesaram-se 0,200 g de ácido 5-cafeoilquínico e diluíram-se em 20 mL de água desionizada e homogeneizou-se. O pH da solução foi ajustado para 8 com uma solução de hidróxido de amónio (4 M). A solução foi aquecida durante 30 minutos num banho de água fervente e, após arrefecimento, ajustou-se o pH com HCl (4 M) para 2,5. As amostras foram filtradas e injetadas. Foram identificados os picos correspondentes aos isómeros 3-CQA e 4-CQA com um tempo de retenção correspondente a 7,9 e 15,1 minutos, respetivamente. Os picos dos cromatogramas correspondentes às amostras surgiram de acordo com a seguinte sequência: 3-CQA, 3- FQA, 4-CQA, 5-CQA, 4-FQA, 5-FQA, 3,4-diCQA, 3,5-diCQA e 4,5-diCQA [36, 219, 236]. A quantificação foi realizada em concordância com a metodologia de Trugo e Macrae [235], baseada no coeficiente de absorvidade molar de cada isómero, para determinar a concentração de cada isómero no café, baseado no fator de resposta de um padrão de 5-CQA. Foi realizada uma curva de calibração para o 5-CQA nos comprimentos de onda 325 e 330 nm. Os compostos foram identificados através da equação de Trugo [235], $C = \frac{Fr \times \epsilon^1 \times Mr^2 \times A}{\epsilon^2 \times Mr^1}$ onde C, representa a quantificação do isómero a quantificar (mg/mL); Fr, o fator de resposta do padrão 5-CQA em mg/mL / unidade de área; ϵ^1 absorvidade molar do padrão 5-CQA; ϵ^2 , absorvidade molar do isómero a quantificar; Mr^2 , a massa molar relativa do isómero em estudo (CQA = 354,31 g mol⁻¹; FQA = 368,28 g mol⁻¹; diCQA = 516,44 g mol⁻¹); Mr^1 , a massa molar do ácido 5-CQA; A, a área do pico do isómero a quantificar. Os coeficientes de absorção molar (ϵ), foram utilizados (3-CQA = 18400, 4-CQA = 18000, 5-CQA = 19500, 3,4-diCQA = 31800, 3,5-diCQA = 31600, 4,5-diCQA = 33200 com λ = 330 nm e 3- FQA = 19000, 4-FQA = 19500, 5-FQA = 19300, com λ = 325nm), expressos em L mol⁻¹ cm⁻¹ [36, 219, 236]. As extrações foram realizadas em duplicado e as análises cromatográficas em quadruplicado. Foram determinados o teor de cada ácido clorogénico, a totalidade dos diferentes isómeros bem como o total de CGA nas matérias primas café dourado, café torrado e pele de prata, e nas bebidas de café

expresso obtidas por uma máquina de café expresso *Briel* e por uma *DQOOL*. Os resultados foram expressos em % massa para as amostras sólidas e em mg/mL para as bebidas.

3.2.4.12. Determinação do teor de glícidos e ácidos orgânicos não voláteis

A quantificação da sacarose e de outros glícidos no café verde foi realizada por HPLC com o uso de detecção de índice de refração [237]. O método para extração dos açúcares e ácidos orgânicos baseou-se na metodologia descrita nos parágrafos seguintes [238, 239].

Pesou-se 1 g da amostra, juntaram-se 10 mL de água desionizada a 90 °C, e procedeu-se a homogeneização com dispersão em ultra-sons, durante 15 minutos e em placa de agitação, durante 1 hora. Posteriormente procedeu-se a uma centrifugação (4000 rpm, 10 minutos, 18 °C), a uma filtração com filtros *Whatman* n.º 3. O extrato obtido antes de ser injetado foi filtrado com filtro de 0,45 µm.

As bebidas foram preparadas através das máquinas de café expresso (máquina *Briel* 7 g de café em 25 mL; máquina *DQOOL* 6 g em 25 mL) e filtradas com um filtro de 0,45 µm.

Os ácidos orgânicos e açúcares foram analisados num cromatógrafo *Waters*, equipado com um detetor de índice de refração (*Refractive Index Detector*, modelo 2414), sistema de solventes (bomba) da *Beckman*, modelo 126, coluna *Aminex* HPX-87H, 300 × 7,8 mm (Bio-Rad Laboratories) e tratamento de dados com Software 32 Karat, versão 7,0, Beckman Coulter. A fase móvel foi composta por uma solução de H₂SO₄ 5 mM (280 µL / L), com um fluxo de 0,6 mL / min e uma temperatura de 30 °C. A identificação dos compostos foi realizada com padrões de D-glucose, D-frutose, sacarose, manose, galactose, ramnose e arabinose, e dos ácidos orgânicos sucínico, málico, cítrico e oxálico (Sigma-Aldrich e Fluka). Além disso, a curva de calibração para cada padrão foi realizada para identificação e quantificação dos compostos com os tempos de retenção dos padrões de concentração conhecida e quantificação das áreas dos picos nos cromatogramas.

3.2.4.13. Análise ultraestrutural do *blend* final

Esta metodologia é extremamente importante para análise estrutural das matérias-primas. Realizaram-se análises de microscopia electrónica de varrimento (*Scanning electron microscopy* – SEM) em amostras de café verde, café torrado, cacau e pele de prata. Esta técnica permitiu analisar a morfologia em grandes ampliações, identificar defeitos e impurezas de modo a caracterizar os detalhes da estrutura das amostras. A resolução extrafina permitiu observar detalhes com dimensões inferiores a 0,1 µm.

As estruturas das amostras a analisar são não-condutoras, pelo que foram revestidas com um material condutor. As amostras desidratadas foram pulverizadas sobre uma superfície metálica e revestidas com uma fina película de ouro, que consistiu num aquecimento sob vácuo e, que ao vaporizar, se depositou sobre a amostra, de forma a tornar a superfície condutora.

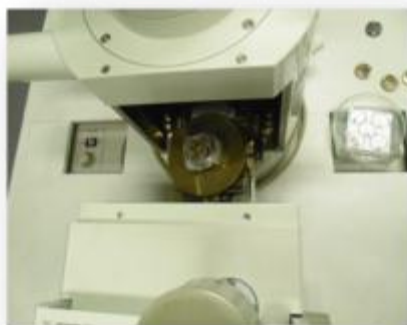


Figura 3.15 – Amostras preparadas, colocadas no equipamento de microscopia eletrônica de varrimento (SEM).

O equipamento emprega um feixe de elétrons, mas estes, em vez de atravessarem o espécime, colidem com a superfície deste, previamente metalizada, e libertam elétrons secundários. Procedeu-se a este revestimento de modo a que a intensidade do feixe de elétrons não danificasse as amostras, que poderia levar à deformação e à fusão do material. Foi a partir destes elétrons, que se obteve uma imagem num monitor. O feixe de elétrons primários é móvel e varre a superfície da estrutura. Daí obter-se uma imagem completa da superfície do objeto a analisar. As micrografias foram registadas em 15 kV, com ampliações que variam de 100 a 5000 vezes. O equipamento utilizado foi um microscópio eletrónico de *Scanning* modelo JEOL JSM 5410 (figura 3.15), possibilitando desta forma o estudo por microscopia eletrónica.

3.2.4.14. Determinação de ocratoxina A no *blend* final

O método analítico utilizado para quantificação da ocratoxina A (QMI 71 de 25/06/2010) baseou-se numa extração com metanol seguida de uma quantificação através de Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) com detetor de fluorescência, cujo limite de quantificação (LQ) era de 1,9 µg/kg (análise realizada no Laboratório de Segurança Alimentar da ASAE).

3.2.5. Análise Estatística

Os dados foram tratados estatisticamente com recurso ao programa *Microsoft® Office Excel 2010*. Os resultados foram analisados estatisticamente, para um nível de significância de $p \leq 0,05$. Foi utilizado o teste ANOVA de fator único, para avaliar as diferenças entre as amostras para uma variável. As diferenças significativas foram expressas recorrendo a diferentes letras: a, b, c, d, e. Na análise de dados multivariados utilizou-se o *software STATISTICA for Windows Release 8.0* – Copyright © StatSoft, INC (2007), para efetuar a análise em componentes principais e a análise de *clusters*.

4. Resultados e Discussão

4.1. Formulação do *blend* final

4.1.1. Espécies, origens e grau de torra dos cafés

A escolha dos graus de torra atendeu a fatores que condicionam a qualidade da bebida final. Neste enquadramento verificou-se que a eficácia da capacidade antioxidante dos extratos de café robusta é consideravelmente superior à dos cafés arábica e que o método equiparável à extração através de água fervente sob pressão elevada é o mais eficiente [100]. Os cafés robusta, devido ao maior teor de polifenóis totais, nomeadamente ácidos clorogénicos, foram submetidos a uma torra média-clara para preservar esses compostos antioxidantes. Note-se que as torras médias também são as indicadas para os cafés expresso e, em detrimento de torras escuras e intensas, correspondem ao perfil de aceitação do consumidor português.

4.1.2. Formulação do café dourado

O café dourado foi incorporado para colmatar o défice de ácidos clorogénicos do cacau e da pele de prata, bem como para potenciar o aumento dos mesmos no produto final, pois as torras destroem parcialmente estes compostos antioxidantes. Com a formulação de um “extrato de café verde” pretendeu-se assim colmatar esse problema, tal como apontado por alguns autores que estudaram extratos de café verde extraídos com água quente [240], álcool [178] ou uma mistura dos dois [159]. Assim, o *blend* final incluiu na respetiva composição café dourado (café verde minimamente processado), do qual resultou uma bebida de café expresso cujo extrato apresentava os componentes extraídos das micropartículas de café dourado. A extração com máquinas de café expresso proporcionou ainda um extrato intenso, devido à dimensão das partículas, à temperatura e à pressão da água.

4.1.3. Ensaios de aprovação de *flavours*

Para a seleção dos ingredientes do *blend* final foram testadas várias percentagens e diferentes ingredientes adicionados ao café (controlo DCH). Cada formulação foi testada por 5 consumidores de café no laboratório do ECO-BIO / IICT (tabela 4.1).

Verificou-se que a combinação do cacau com o café apresenta um resultado positivo quando adicionado numa percentagem de 2,5 %. A adição de especiarias ou outros ingredientes permite acentuar o sabor do café e por vezes mascarar *off-flavours*. No entanto verificou-se que os consumidores não apreciam cafés com adição de outros ingredientes com sabores distanciados do café. Assim, o ingrediente selecionado pelos consumidores para incorporar o *blend* final foi o cacau, tal como se verifica na tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Resultados da aprovação de *flavours*.

Código da amostra	Composição	Resultado	Comentários
C11	DCH (controlo – café torrado moído)	Aprovado	Aroma normal a café, sabor suave e áspero.
C21	97,5% DCH; 2,5% gengibre	Reprovado	Exótico, cheiro doce, sabor a mentol, sabor forte a anis.
C30	97,5% DCH; 2% cardamomo	Reprovado	Exótico, doce, refrescante.
C31	99% DCH; 1% alho	Reprovado	Sabor amargo, salgado e residual.
C40	90% DCH; 10% cacau	Reprovado	Sabor amargo.
C41	95% DCH; 5% cacau	Reprovado	Sabor ligeiramente amargo.
C41	97,5% DCH; 2,5% cacau	Aprovado	Sabor doce.
C51	90% café; 10% alecrim	Reprovado	Sabor do alecrim detetado.
C62	92,5% café; 5% cacau; 2% gengibre; 0,5% alho	Reprovado	Aroma e sabor suave, foi detetado o sabor do alho.

Para a formulação do produto utilizou-se cacau em pó, parcialmente desengordurado (15 % matéria gorda), com origem na Costa do Marfim. Provenha de sementes devidamente fermentadas e secas, cuja coloração do pó é característica de cacau natural (não alcalinizado). Caracteriza-se por uma adstringência e um amargor relativamente baixos e não apresenta acidez excessiva ou resíduos de fumo.

4.1.4. Ensaio preliminares para testes da moagem *versus* extração

Tendo por objetivo otimizar a formulação do *blend* efetuaram-se diferentes ensaios preliminares, equacionando sistemas de moagem e características de extração. Nas tabelas 4.2, 4.3 e 4.4 apresentam-se os comentários correspondentes às formulações e respetivas moagens.

Tabela 4.2 - Estudos realizados com o moinho do controlo de qualidade da Novadelta (estudo de 3 moagens padronizadas) e extraídas numa máquina de café expresso profissional.

Formulação	Moagem	Comentários
Café (92%) Cacau (5%) Pele de prata (3%)	Moagem 10 (moagem grossa)	Sabor achocolatado. Creme menos espesso e menos consistente; pouco encorpado; aroma agradável. Adstringente.
Café (92%) Cacau (5%) Pele de prata (3%)	Moagem 8	Creme pouco consistente; cor do cacau; sabor a cacau. Adstringente
Café (90%) Cacau (5%) Pele de prata (5%)	Moagem 8	Creme pouco consistente; não tem corpo, acidez relevante, aspeto inferior, mais amargo, identifica-se menos o cacau. Adstringente.
Café (92%) Cacau (5%) Pele de prata (3%)	Moagem 6	Bom creme, consistente e moderadamente persistente. Adstringente.

As várias formulações representadas na tabela 4.2 submetidas a diferentes moagens permitiram verificar que para obter uma bebida com creme característico terá de ter uma percentagem de café superior a 92 % e uma moagem característica (fina), moagem 6.

Tabela 4.3 - Estudos realizados com o moinho de café expresso profissional utilizado na hotelaria e restauração e extraídas numa máquina de café expresso profissional.

Formulação	Moagem	Comentários
Café (90,95 %) Cacau 5 % Pele de prata (4 %) Cardamomo (0,05 %)	Moagem 7	Bom aroma, creme aceitável, sabor a cardamomo, não se identificou o sabor do cacau.
Café (92 %) Cacau (5 %) Pele de prata (2,99 %) Cardamomo (0,01 %)	Moagem 6	Bom aroma, creme aceitável, cor achocolatada.
Café (92 %) Cacau (5 %) Pele de prata (2,98 %) Cardamomo (0,02 %)	Moagem 6	Bom aroma, creme aceitável, nota-se o cacau, ácido, melhor que o anterior.

As formulações descritas na tabela 4.3 evidenciaram que uma percentagem de 0,05 % de cardamomo adicionada ao *blend* pode mascarar *off-flavours* e até a presença de cacau. A adição de percentagens inferiores não foram identificadas e a presença do cacau foi realçada.

A tabela 4.4 apresenta um resumo de algumas formulações mal sucedidas e outras bem sucedidas. Através deste estudo verificou-se que o limite mínimo de café a incorporar no *blend* é 92 %, o ótimo 95 % e a moagem ideal é a 6. A incorporação de 5 % de cacau aceitável em algumas formulações não foi considerada para a formulação final uma vez que essa percentagem pode contribuir para um café menos encorpado e com pouco creme. Paralelamente a estes acontecimentos relatados deverão ainda ser realçados os sabores amargo, adstringente e queimado, característicos de uma deficiente extração. Por conseguinte e no intuito de salvaguardar um possível entupimento do filtro a percentagem de cacau selecionada foi de 3 %. A percentagem de pele de prata considerada foi 2 %, uma vez que o sabor cerealífero característico não é percebido e este teor adiciona ao produto algum valor, contribuindo para a sustentabilidade, minimizando desperdícios com subprodutos.

Tabela 4.4 - Moagens realizadas com vários ingredientes e diferentes percentagens, visando a otimização de um *blend* final, efetuadas num moinho profissional da hotelaria e restauração e extraídas numa máquina de café expresso profissional.

Formulação	Moagem	Comentários
Café (90%) Cacau (5%) Pele de prata (5%)	Moagem 6	Ficou retido. Extração muito deficiente e sabor a queimado.
Café (88%) Pele de prata (7%) Cacau (5%)	Moagem 6	Ficou retido. Extração muito deficiente e sabor a queimado.
Café (90%) Cacau (5%) Pele de prata (5%)	Moagem 7	Adstringente. Mais ácido e amargo. Pouco encorpado, gosto residual aceitável.
Café (88%) Pele de prata (7%) Cacau (5%)	Moagem 7	Crema pouco persistente.
Café (91%) Cacau (6%) Pele de prata (3%)	Moagem 5	Extração difícil. Nota-se o sabor a cacau quando se adiciona o açúcar, pouco encorpado e baixo teor de sólidos totais.
Café (92%) Cacau (5%) Pele de prata (3%)	Moagem 5	Crema mais persistente, extração difícil, baixo caudal, amargo e adstringente.
Café (92%) Cacau (5%) Pele de prata (3%)	Moagem 6	Bom crema e persistente, leve odor a cítricos, cor achocolatada, encorpado, mais adstringente, mais ácido, mais amargo.
Café (92%) Cacau (5%) Pele de prata (3%)	Moagem 7	Extração muito facilitada, caudal de extração muito elevado, pouco crema.
Café (96%) Cacau (2,5%) Pele de prata (1,5%)	Moagem 5	Extração muito difícil, baixo caudal.
Café (95%) Cacau (3%) Pele de prata (2%)	Moagem 6	Blend Selecionado (Não apresenta problemas na extração) Devido às quantidades reduzidas de cacau e pele de prata as características organoléticas apresentaram um resultado positivo do ponto de vista do consumidor.

4.1.5. Caracterização da moagem

A moagem do *blend* final foi realizada num moinho para café expresso e ajustada de modo a que o tamanho das partículas proporcione uma extração satisfatória dos sólidos solúveis como uma quantidade de crema equivalente à dos cafés expressos.

As matérias-primas utilizadas na formulação foram processadas de acordo com os princípios da nanotecnologia, que visam diminuir a quantidade do café dourado e da pele de prata na composição

final do produto. De facto, com a redução das partículas, quer as características organoléticas, quer o cariz funcional podem ser potenciados. Acresce ainda que comparativamente ao processamento tradicional, a redução das partículas dos ingredientes funcionais, devido à sua superior biodisponibilidade e capacidade de dispersão, eleva a sua eficácia aquando da incorporação em alimentos funcionais [241].

A moagem do *blend* foi otimizada para possibilitar uma extração eficaz dos compostos solúveis e alguns insolúveis com potenciais características funcionais. A obtenção de um creme típico do café expresso, características organoléticas interessantes e de um *flavour* acentuado a cacau foram também considerados na seleção da moagem.

Na tabela 4.5 encontra-se representado o ponto de equilíbrio da moagem para uma extração equilibrada do *blend* do ponto de vista tecnológico, em que a partir da formulação experimentou-se a granulometria ideal para a extração do café expresso correspondente ao *blend* final.

Tabela 4.5 - Granulometria do *blend* após moagem no moinho de café expresso.

Crivo/Dimensão das partículas (mm)	Massa retida (%)	
	BF teste	BF final
ASTM 35/ > 0,500	6,5	1,5
ASTM 60/ 0,500 - 0,250	61,0	51,7
ASTM 80/< 0,250	34,5	46,8

A granulometria do *blend* final BF foi testada de modo a proporcionar uma formulação que corresponde ao limite de uma extração eficiente com base nas especificações do produto em teste.

4.1.6. Extração das bebidas de café expresso

A extração das bebidas de café expresso foi realizada em diferentes máquinas. Foram preparados três *blends* com diferentes percentagens de ingredientes e tipos de moagens. Após extração para um copo de precipitação, verificou-se o creme, a espuma persistente e degustaram-se os *blends*. A figura 4.1 evidencia a redução do creme após a incorporação do cacau. Verificou-se ainda que o extrato etanólico de cacau adicionado aos grãos de café originou um café expresso sem creme. Por oposição, a formulação de café com cacau adicionada de pele de prata, deu origem a uma bebida com mais creme (copo de precipitação n.º 2).

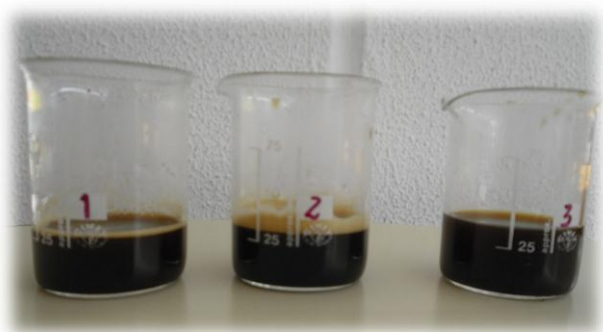


Figura 4.1 - Copos de precipitação com três cafés expressos provenientes das formulações: café com cacau (1); café com pele de prata e cacau (2); café pulverizado com extrato etanólico de cacau (3).

4.1.7. Testes na máquina *QOOL* by Brasília

Foram preparadas formulações para testar as cápsulas (Delta Q) na correspondente máquina. Utilizou-se uma moagem universal / média (i.e., a moagem 6), realizada no moinho de controlo de qualidade. Procedeu-se à extração de bebidas de café com diferentes percentagens de cacau (2,5; 5; 10 e 15 %). Constatou-se então que, com o aumento da percentagem de cacau, mais difícil se torna a extração da bebida, aspeto que decorre da granulometria desse produto. Para ultrapassar esta limitação, procedeu-se então a uma moagem mais grossa (i.e., uma moagem 11) que otimizou a extração da bebida, principalmente porque favoreceu a passagem do cacau.

A formulação de 10 % de cacau foi testada com uma moagem mais grossa (i.e., uma moagem 11) para as cápsulas e deu origem a uma cor castanha com tonalidade média. Neste caso, a moagem possibilita, dada a menor área de contato, que os sólidos do cacau sejam extraídos em maior quantidade e, ao invés, os de café em menor quantidade. No entanto esta moagem grossa não foi considerada porque não correspondia à extração de um café expresso com creme.

Para uma moagem média / universal que se traduza numa extração eficiente e numa menor perda de creme, a percentagem de cacau, recomendável para cápsulas situa-se entre 2,5 e 5 %.

4.2. Análise sensorial e provas hedónicas

4.2.1. Testes preliminares da associação do café com cacau

No âmbito da análise sensorial realizada às diferentes amostras correspondentes aos *blends* formulados (amostra 1 - 75 % café arábica, 25 % café robusta e 5 % cacau; amostra 2 - 50 % café arábica, 50 % café robusta e 5 % cacau; amostra 3 - 25 % café arábica, 75 % café robusta e 5 % cacau e amostra 4 - 75 % café arábica e 25 % café robusta), pretendeu verificar-se qual a melhor formulação de café em combinação com o cacau.

Verificou-se que (figura 4.2), a classificação máxima se atribuiu na ausência de cacau, enquanto na presença deste produto a melhor classificada foi a correspondente à amostra 3.

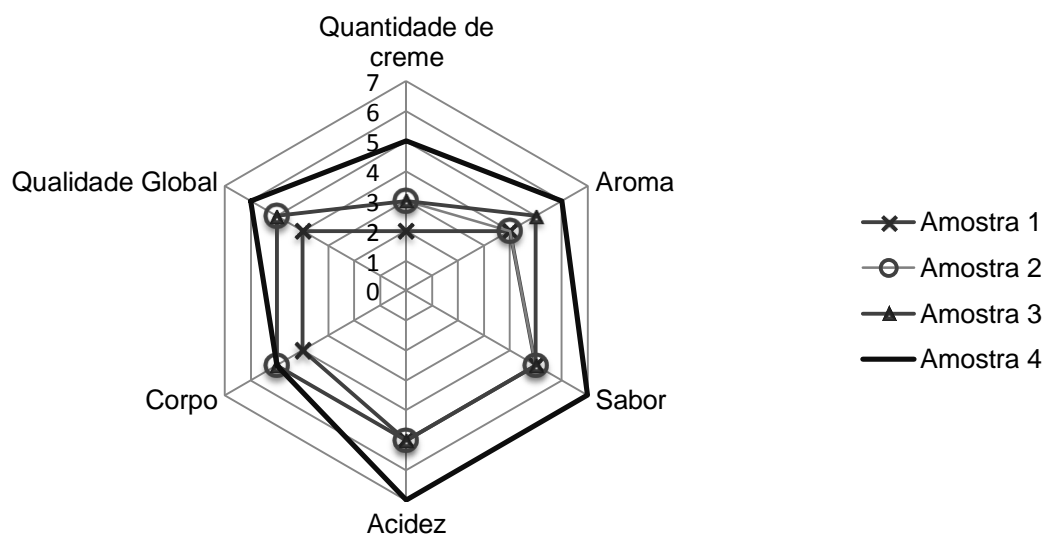


Figura 4.2 - Análise sensorial correspondente aos ensaios preliminares de associação do café com o cacau (amostra 1 - 75 % café arábica, 25 % café robusta e 5 % de cacau; amostra 2 - 50 % café arábica, 50 % café robusta e 5 % de cacau; amostra 3 - 25 % café arábica, 75 % café robusta e 5 % de cacau e amostra 4 - 75 % café arábica e 25 % café robusta).

O resumo dos comentários descritos na tabela 4.6 também evidencia que a amostra 3 é a que poderá ter mais sucesso na formulação do *blend* com cacau.

Tabela 4.6 - Resumo dos comentários respeitantes à apreciação dos provadores realizados nas 4 amostras para as diferentes características.

Apreciações dos provadores	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4 (Padrão)
Quantidade de creme	Pouco creme	Pouco creme	Pouco creme	Creme normal
Aroma	Ligeiro aroma a cacau	Notas cítricas	Mais notável	Equilibrado; floral
Sabor	Sabor a cacau	Sabor a café	Equilibrado	Equilibrado
Acidez	Ligeira	Notável, ligeiro amargo	Mais notável	Equilibrado
Corpo	Fraco	Equilibrado	Fraco	Equilibrado
Qualidade Global	Sedimento visível no fundo da taça	Equilibrado	Adocicado	Mais apreciado

Amostra 1 - 75 % café arábica, 25 % café robusta e 5 % de cacau; Amostra 2 - 50 % café arábica, 50 % café robusta e 5 % de cacau; Amostra 3 - 25 % café arábica, 75 % café robusta e 5 % de cacau e Amostra 4 - 75 % café arábica e 25 % café robusta.

Constatou-se com esta prova que o café robusta em quantidades superiores num *blend* de café com cacau é suscetível de maior apreciação por parte dos consumidores. Verifica-se que a junção de 5 % de cacau ao café torrado proporciona um café pouco encorpado e com pouco creme. A diminuição do mesmo é essencial para a obtenção de um café expresso normal (com creme).

4.2.2. Provas hedônicas

A realização de provas hedônicas, vulgarmente interpretadas como testes de consumidor, foi efetuada para aferir uma eventual apetência no mercado. Foram testadas várias formulações baseadas em lotes existentes no mercado e outras formuladas. Neste estudo inicial utilizou-se um painel de consumidores constituído por 59 consumidores de café (colaboradores da Novadelta). Primeiramente foram testadas as seguintes amostras: Amostra A – lote comercializado com sucesso no mercado português, Amostra B – *blend* 3 (75 % café robusta e 25 % café arábica) e Amostra C – *blend* 3 com 10 % de cacau. O objetivo foi verificar se as formulações correspondentes às amostras B e C se aproximavam da Amostra A (*blend* de café apreciado pelos consumidores portugueses), a aceitação da Amostra C e verificar eventuais acertos no *blend* com base nas apreciações. As figuras 4.3, 4.4 e 4.5 representam os resultados das provas hedônicas para as três amostras descritas anteriormente.

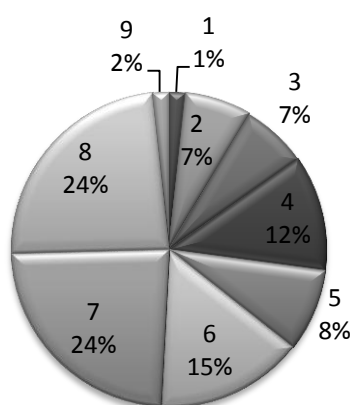


Figura 4.3 - Gráfico com a caracterização da apreciação global efetuada pelo consumidor em relação à amostra A (lote comercializado com sucesso no mercado português). A percentagem representa os consumidores que atribuíram uma nota de 1-9 correspondente à escala hedônica *US Army* nos testes de consumidor.

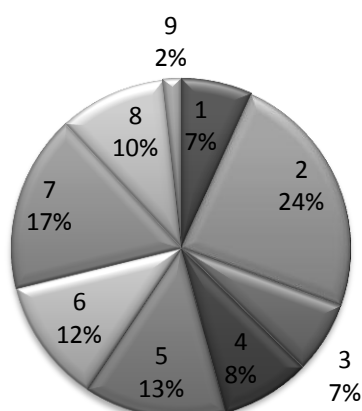


Figura 4.4 - Gráfico com a caracterização da apreciação global efetuada pelo consumidor em relação à amostra B (*blend* 3 constituído por 75 % café robusta e 25 % café arábica). A percentagem representa os consumidores que atribuíram uma nota de 1-9 correspondente à escala hedônica *US Army* nos testes de consumidor.

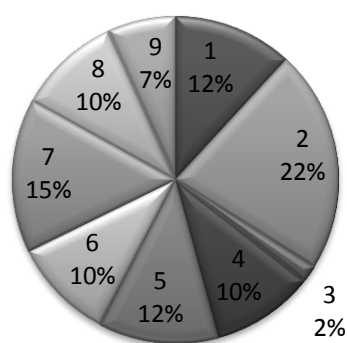


Figura 4.5 - Gráfico com a caracterização da apreciação global efetuada pelo consumidor em relação à amostra C (*blend* 3 com 10 % de cacau). A percentagem representa os consumidores que atribuíram uma nota de 1-9 correspondente à escala hedônica *US Army* nos testes de consumidor.

Neste contexto, constatou-se que a amostra A, correspondente à comercializada no mercado, obteve uma classificação média de 5,9, aproximando-se do critério aceitável “gosta ligeiramente”, significativamente diferente das outras amostras testadas. A amostra B com classificação 4,6 e a C com classificação 4,7 aproximam-se do critério “não gosta nem desgosta”. As amostras B e C têm a mesma quantidade de café (75 % de robusta e 25 % de arábica), sendo que apenas a C inclui cacau na sua composição. Os resultados demonstraram que este *blend* é mais apreciado com cacau, o que, por sua vez, evidencia a combinação otimizada do cacau com o café robusta. No entanto as amostras B e C não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5 % ($p \leq 0,05$).

Provas hedônicas – Adição de pele de prata

Seguidamente foi realizado um novo teste com o intuito de verificar a aceitação do consumidor à introdução de pele de prata no *blend* de café com cacau que se pretendia formular. Para tal utilizou-se como café controlo a amostra Z21, correspondente ao lote O, café selecionado e que apresenta aceitação no mercado português e a amostra A21, constituída por 95 % café lote O, 3 % cacau e 2 % pele de prata. O gráfico da figura 4.6 apresenta os resultados obtidos nas provas hedônicas.

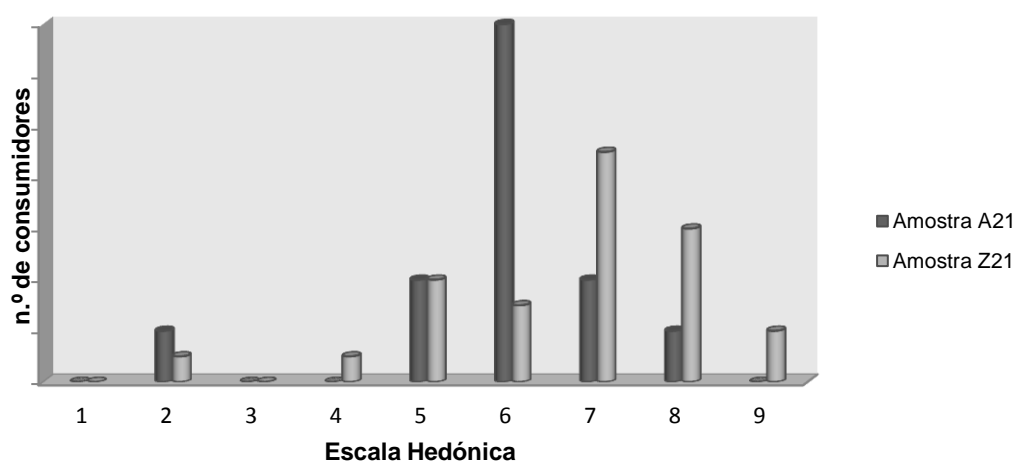


Figura 4.6 - Resultados respeitantes à qualidade global das amostras A21 e Z21 classificados pelos consumidores a partir da escala hedônica *US Army*.

A amostra A21 (correspondente ao *blend* formulado com 95 % café lote O, 3 % cacau e 2 % pele de prata) apresentou uma média da aceitação da qualidade global de 5,8 (“aceitável”) enquanto que na

amostra Z21 (lote O) correspondeu a 6,6 ("standard"). As duas amostras constituídas com o mesmo café (Lote O) apresentaram diferenças significativas ao nível de 5 % ($p \leq 0,05$). De notar que a amostra Z21 é de consumo e aceitação relevante no mercado português e considerada um dos melhores *blends* comercializados pela empresa Novadelta.

O mesmo estudo revelou que 69 % adiciona açúcar ao café, 4 % adiciona adoçante e 27 % não adiciona qualquer ingrediente. A elevada proporção de consumidores que adiciona açúcar é particularmente relevante neste estudo pois quando o açúcar é adicionado ao *blend* formulado homogeneiza-se com o cacau e realça o sabor a chocolate. Note-se contudo que esta evidência só foi significativa em amostras cujo teor de cacau é superior a 5 %.

Verificou-se que 54 % dos consumidores consideraram a amostra A21 aceitável, enquanto 15 % a classificaram com o critério "gosta moderadamente", 8 % "gosta muito" e 15 % "não gosta nem desgosta". Apenas 8 % a classificou com "não gosta". A amostra formulada apresenta assim uma aceitação por parte dos consumidores de 92 %, tal como a amostra Z21, apesar dos critérios de aceitação serem significativamente superiores para a última. Adicionalmente constatou-se ainda que todos os consumidores que referiram beber cinco ou mais cafés por dia preferiram a amostra A21 e, que dos que afirmaram que bebem 4 cafés por dia, 50 % também preferiu a amostra A21. Verificou-se assim que esta formulação A21 correspondente ao *blend* formulado com 95 % café lote O, 3 % cacau e 2 % pele de prata apresenta uma base de sustentação para a formulação final, uma vez que estas percentagens de cacau e pele de prata apresentaram aceitação por parte dos consumidores quando combinadas com o café.

A pele de prata também foi testada isoladamente e apresentou características menos positivas no que respeita à análise sensorial (sabor cerealífero). A pele de prata, quando incorporada no *blend* e ao contrário de outros ingredientes funcionais, é notória. Os resultados referentes à sua incorporação influenciam negativamente os atributos sensoriais quando é adicionada em quantidades significativas. Em quantidades reduzidas não se evidencia impacto negativo na apreciação das bebidas de café expresso.

Constatou-se ainda que a incorporação dos ingredientes funcionais cacau e pele de prata reduzem a qualidade da bebida relativamente às características organoléticas. A sua maior valia advém do seu cariz funcional no que diz respeito à diversidade de compostos bioativos. No entanto o grau de apetência pelo lote O é notório, resultado da habituação dos consumidores ao café desenvolvido na empresa em detrimento de sabores incomuns no café, existentes no cacau e na pele de prata. Os resultados mais positivos para amostras cujos sabores são identificados pelos consumidores como familiares apresentaram um maior nível de aceitação. Um estudo realizado com consumidores brasileiros classificados num segmento caracterizado por baixos recursos atribuiu uma classificação em provas hedónicas superior a cafés com defeitos em detrimento de cafés sem defeitos ou comerciais [242]. Este facto evidencia que o hábito de consumir um determinado produto o torna preferencial em detrimento de um novo produto, mesmo quando o primeiro não apresenta a

qualidade desejável. A subjetividade das provas hedônicas e a potencial variabilidade da amostra com base nos padrões de qualidade influenciam as escolhas diversificadas dos consumidores.

Comparação do *blend* final (BF) com cafés comerciais ricos em antioxidantes

Foram realizados testes de consumidor de modo a comparar o *blend* final, BF (94 % café torrado CTBF (70 % café robusta; 30 % café arábica), 3 % cacau, 2 % pele de prata e 1 % café dourado) com dois cafés do mercado AS (café de torra clara e moagem fina) e TSS (café com pele de prata inteira) “enriquecidos naturalmente com antioxidantes” (figura 4.7).

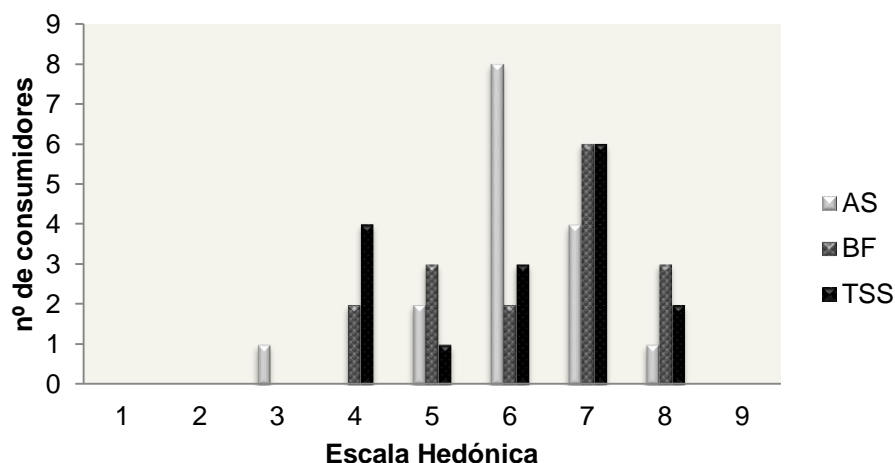


Figura 4.7 - Representação gráfica dos resultados dos testes de consumidores às amostras AS, BF e TSS (n=16).

Verifica-se que o *blend* final (BF) apresentou uma apreciação global média de 6,31, ligeiramente superior quando comparada com as amostras adquiridas no mercado (AS e TSS), ambas com uma apreciação global média de 6,06. No entanto as diferenças entre as amostras não se apresentaram estatisticamente significativas ao nível de 5 % ($p \leq 0,05$).

4.2.3. Análise descritiva quantitativa

O perfil sensorial do *blend* final BF (figura 4.8) corresponde à análise descritiva quantitativa efetuada para os 15 parâmetros: cor, aspeto, odor, acidez, amargor, salinidade, doçura, metálico, adstringência, riado, fermentado, corpo, *flavour*, gosto residual e persistência.

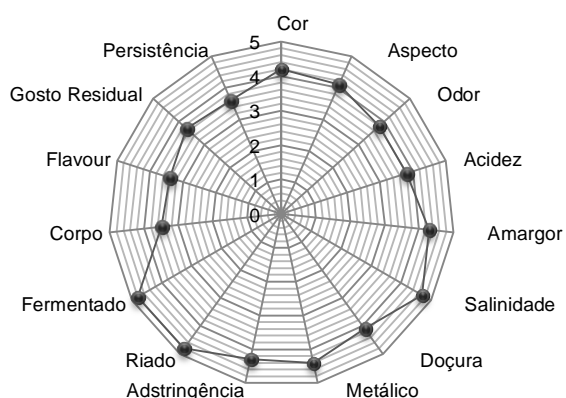


Figura 4.8 - Representação gráfica da avaliação dos parâmetros sensoriais do *blend* final BF (n=11).

O *blend* final BF foi aprovado pelo painel de provadores da Novadelta. Considerando todos os atributos analisados, numa escala de 1 a 5 foi classificado com uma média de 4,1. A partir do gráfico (figura 4.9) constata-se que os provadores (C_1 a C_11) consideraram que a bebida de café expresso em estudo apresenta características que demonstram a sua qualidade no que respeita às impressões gustativas, olfativas e visuais. Os resultados mais baixos incidiram sobre corpo, *flavour*, gosto residual e persistência (com uma média de 3,5 numa escala de 1 a 5).

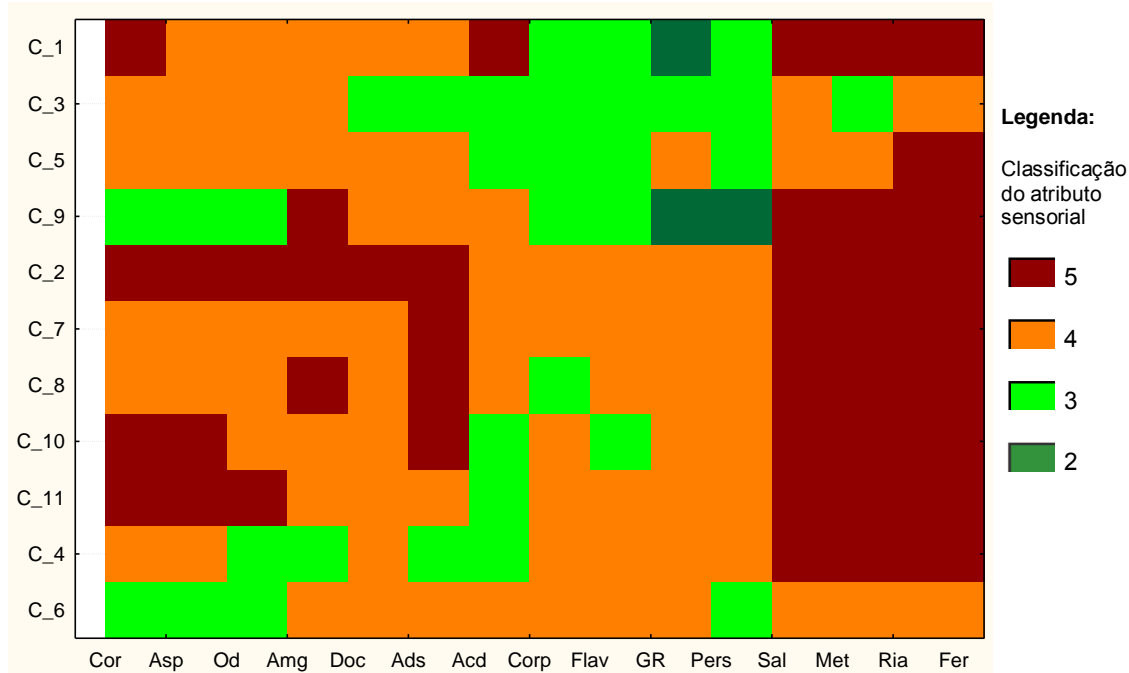


Figura 4.9 - Gráfico de representação da classificação efetuada pelos provadores (n=11) para 15 parâmetros sensoriais: Cor, Asp - aspeto; Od - Odor; Amg - amargo; Doc - doçura; Ads - adstringente; Corp - corpo; Flav - flavour; GR - gosto residual; Pers - persistência; Sal - salinidade; Met – metálico; Ria - riado e Fer - fermentado.

Os testes efetuados correspondentes à análise sensorial permitiram elaborar um produto que se baseou na seleção das origens, torras diferenciadas (médias-claras e médias), testes onde as percentagens das diferentes espécies de café arábica e robusta foram consideradas, bem como a combinação das mesmas com o cacau. O procedimento de formulação de um *blend* de café foi realizado gradualmente com introduções de valor ao produto, com aprovações e reprovações de ingredientes e com tecnologia otimizada para o sucesso da formulação final. Vários produtos semiacabados foram desenvolvidos, considerados e testados através de análise sensorial até à obtenção do *blend* final BF que foi aprovado pelos consumidores do ECO-BIO / IICT e Novadelta que atribuíram à formulação resultados numa escala hedónica positivos quanto à apreciação do mesmo. O painel de provadores da Novadelta classificou o produto dentro dos parâmetros usualmente utilizados pela empresa, avaliando-o com aprovação e considerando-o dentro dos padrões correspondentes aos atributos sensoriais testados.

4.3. Café verde comercial

4.3.1. Exame olfativo e visual

Os diferentes cafés verdes estudados apresentavam o cheiro característico do café verde, não apresentando qualquer odor indesejável. O exame visual, também apresentou conformidade para os cafés da espécie *Coffea arabica* em todos os parâmetros analisados. Os cafés da espécie *Coffea canephora* apresentaram não conformidade quanto à uniformidade porque os grãos revelaram uma heterogeneidade superior a 95 % no tamanho, forma e cor (tabela 4.7).

Tabela 4.7 - Resultados do exame olfativo e visual dos cafés verdes comerciais estudados (ABV, AHV, ATV, RAV e RCV) segundo a NP 1795 [201].

ABV	Espécie	Origem	Processamento	Exame Visual		Exame olfativo
				Cor Dominante	Uniformidade	
ABV	<i>C. arabica</i>	Brasil	Via seca	Esverdeada	Homogénea	Normal
AHV	<i>C. arabica</i>	Honduras	Via húmida	Esverdeada	Homogénea	Normal
ATV	<i>C. arabica</i>	Timor	Via húmida	Esverdeada	Homogénea	Normal
RAV	<i>C. canephora</i>	Angola	Via seca	Amarelada	Heterogénea	Normal
RCV	<i>C. canephora</i>	Camarões	Via seca	Amarelada	Heterogénea	Normal

Abreviaturas: ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões.

4.3.2. Classificação com base nos corpos estranhos e defeitos

Neste estudo adotou-se a classificação sugerida pela ICO, que pretende uniformizar as propostas de diversas organizações, incluindo a *London International Financial Futures and Options Exchange* e as dos países produtores, ambas baseadas na identificação de defeitos e matéria estranha, extraídos e pesados de uma amostra.

Neste enquadramento, a ISO 10470:2004 [202], utilizada para o cálculo dos defeitos e matéria estranha, é a mais abrangente de todas as regulamentações relativas a defeitos e, devido à quantidade e diversidade de defeitos verificados, foi por esta razão aplicada na amostra RAV, correspondente ao café robusta de Angola (tabela 4.8). Foi ainda efetuada uma classificação comparativa dos cinco cafés verdes (tabela 4.9), baseada nos parâmetros de classificação: grãos pretos, verdes e ardidos (PVA), quebrados e “brocados”.

A presença de grãos defeituosos é uma consequência de problemas que ocorrem durante as operações de colheita e pós-colheita. Os defeitos mais relevantes para a qualidade da bebida são os pretos, verdes e ardidos [243].

Tabela 4.8 - Projeção da classificação e quantificação exaustiva dos defeitos do café robusta de Angola verde baseada na Tabela de referência dos defeitos do café verde (ISO 10470:2004).

Defeito baseado na ISO 10470:2004	massa (g)	%	Perda de massa		Atributos sensoriais	
			Coeficiente	Atual	Coeficiente	Atual
Cereja seca	0,12	0,12	0,50	0,06	-	-
Grãos mal-formados	0,75	0,75	-	-	0,50	0,37
Fragmentos de grãos	0,81	0,81	0,50	0,40	0,50	0,40
Grãos quebrados	1,04	1,03	0,50	0,52	0,50	0,52
Grãos danificados por insetos	5,33	5,30	-	-	0,50	2,65
Grãos manchados	0,92	0,92	-	-	0,50	0,46
Grãos pretos	1,12	1,11	-	-	1,00	1,11
Grãos pretos-verdes	0,38	0,38	-	-	1,00	0,38
Grãos ardidos	1,01	1,00	-	-	1,00	1,00
Grãos verdes	2,64	2,62	-	-	0,50	1,31
Grãos cerosos	1,17	1,16	-	-	0,50	0,58
Grãos manchados irregulares	1,40	1,39	-	-	0,50	0,70
Grãos leves	0,39	0,39	-	-	0,50	0,19
Grãos brancos	0,78	0,78	-	-	0,50	0,39
Grãos saudáveis	81,63	81,2	-	-	-	-
TOTAL	99,48	100		0,98		10,07

O café robusta de Angola, que foi incorporado no *blend* final BF em maior percentagem, após aplicação dos coeficientes, que variam entre 0,5 e 1 e dizem respeito à influência na qualidade do café, foi classificado, pelo Instituto Nacional do Café de Angola, como sendo de 2ª Qualidade AA, o que justifica os defeitos verificados (e consequentemente influenciam os atributos sensoriais e a perda de massa). Este café, bem como os cafés que incorporam o *blend* final BF, foram aprovados pela Novadelta para formulação dos *blends*.

Verificou-se ainda que o café robusta apresentou um teor de defeitos consideravelmente superior ao café arábica (tabela 4.9). O café ABV submetido a um processamento por via seca, revelou um maior teor de defeitos comparativamente ao café arábica submetido a um processamento por via húmida.

Relativamente aos grãos verdes, que provêm de frutos imaturos aumentam a adstringência das bebidas [244]. Os grãos ardidos podem ser formados pela escassez de água durante o desenvolvimento dos frutos, ou por fermentação anormal de grãos imaturos ou maduros, que poderão originar na bebida, e dependendo da fermentação do grão, um *flavour* a cebola, sabor azedo, fermentado e forte cheiro desagradável. O grão ardido pode preceder a formação do grão preto. Os grãos pretos poderão também ter origem em más práticas agrícolas, fermentações no processamento pós-colheita ou uma secagem inadequada dos grãos verdes. Promovem um *flavour* pesado na bebida também caracterizada por um sabor fedorento, a mofo, sujo, azedo e fenólico. Estes grãos apresentam um elevado risco pois podem conter ocratoxina A [30]. Estes três tipos de grãos (pretos, verdes e ardidos) são usualmente identificados como PVA e são considerados defeitos graves, porque têm um impacto significativo na qualidade da bebida [30]. Os brocados são grãos danificados

pela praga *Hypothenemus hampei* (usualmente conhecido por broca do café). Este defeito causa uma perda na massa dos grãos, o que prejudica o rendimento e a qualidade do produto final.

Tabela 4.9 - Principais defeitos (PVA, Brocados e Quebrados) detetados nos grãos de café verde comercial (RAV, RCV, ABV, ATV e AHV).

Amostras de café verde	Defeitos intrínsecos (%)			
	PVA ^x	Brocados ^y	Quebrados ^z	TOTAL
RAV	3,57 ± 2,03 ^a	7,97 ± 2,17 ^a	2,08 ± 1,49 ^a	13,62
RCV	4,77 ± 1,00 ^a	9,00 ± 1,15 ^a	1,31 ± 0,26 ^b	15,08
ABV	3,46 ± 0,49 ^a	3,31 ± 0,38 ^b	1,53 ± 0,24 ^b	8,30
ATV	0,48 ± 0,18 ^b	3,10 ± 0,17 ^b	0,56 ± 0,25 ^b	4,14
AHV	4,63 ± 0,74 ^a	0,50 ± 0,15 ^b	0,56 ± 0,24 ^b	5,69

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3). As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café verde comercial.^x corresponde aos itens 4.1, 4.2, 4.3 e 4.5; ^y ao item 3.4 e ^z aos itens 3.2 e 3.3 do Anexo C da norma ISO 10470:2004 [202]. Abreviaturas: ABV – café verde comercial espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões.

As amostras que apresentaram maior teor de PVA foram os cafés do continente americano (ABV e AHV) e africano (RAV e RCV), não apresentando diferenças significativas. Distingue-se dos mesmos o café asiático ATV que, para este parâmetro, apresenta um baixo teor de PVA, sendo assim promotor de uma bebida com qualidade superior. O café RAV apresentou um teor de grãos quebrados superior às restantes amostras e, juntamente com o RCV, apresentaram um teor de grãos brocados significativamente superior aos cafés (ATV, ABV e AHV). Um estudo realizado por Bosselmann *et al.* [245], em Huila, na Colômbia evidenciou que a ocorrência da broca (*Hypothenemus hampei*) em *Coffea arabica* L. cv. *Caturra KMC*, foi menor em altitudes elevadas e superior em zonas de sombreamento.

Os grãos submetidos ao processamento por via húmida ATV e AHV apresentaram uma quantidade de grãos saudáveis superior, possivelmente devido à colheita seletiva que antecede o despulpamento, nesta prática os frutos vermelhos e saudáveis são colhidos e a secagem é efetuada em terreiro de cimento, propiciando um menor número de defeitos nos grãos. A figura 4.10 representa a distribuição dos grãos saudáveis, PVA, brocados e quebrados identificados nas 5 amostras de café verde comercial estudadas.

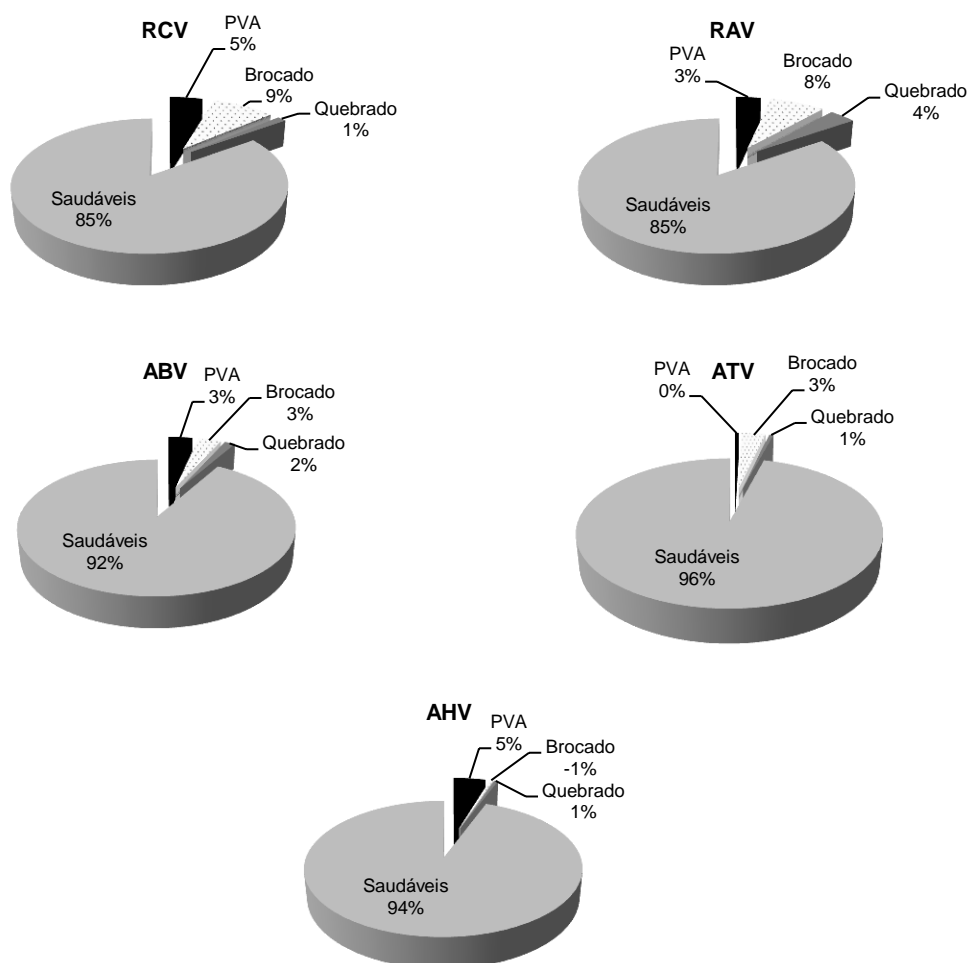


Figura 4.10 - Distribuição dos grãos com defeitos (PVA, brocados e quebrados) nas amostras de café verde comercial (ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões).

De acordo com Farah *et al.* [60], grãos saudáveis (sem defeitos) propiciam bebidas de qualidade superior, a inclusão de grãos com defeitos nas formulações de café propiciam bebidas mais depreciativas. A percentagem de PVA identificada nas amostras foi significativa para as amostras RAV, RCV, ABV e AHV. A exceção foi a amostra ATV que apresenta um menor teor destes grãos com defeitos e que provocam *off-flavours* nas bebidas. No entanto todas as amostras apresentaram um teor de PVA inferior ao limite máximo recomendável (20 %), proposto pela ABIC [246].

4.3.3. Análise granulométrica

A granulometria dos grãos de café é considerada um fator relevante para a sua valorização comercial. A análise granulométrica dos diferentes cafés verdes permitiu estabelecer diferenças significativas relativamente à dimensão dos grãos provenientes de diferentes origens, bem como às diferenças que poderão existir entre grãos da mesma espécie e da mesma origem. Os resultados

correspondentes a este ensaio exprimiram-se na percentagem de massa retida em cada crivo e no recetáculo, em concordância com o proposto pela norma ISO 1636:1981 [206] (Tabelas 4.10 e 4.11).

Tabela 4.10 - Percentagem de grãos de café verde correspondentes às amostras que compõem o BF, retidos em cada crivo / recetáculo das amostras.

Crivo	Massa retida em cada crivo/recetáculo (%)				
	RAV	RCV	ABV	AHV	ATV
nº 20	–	18,96 ± 1,12	1,418 ± 0,41	4,41 ± 0,32	0,12 ± 0,13
nº 19	–	25,49 ± 4,34	5,64 ± 0,14	10,20 ± 0,31	0,00 ± 0,00
nº 18	2,34 ± 1,23	29,85 ± 2,90	13,97 ± 2,55	17,56 ± 2,61	0,17 ± 0,00
nº 17	29,85 ± 2,15	22,69 ± 0,91	52,44 ± 4,49	38,00 ± 2,38	12,71 ± 0,86
nº 16	30,10 ± 1,65	0,93 ± 0,25	23,37 ± 2,22	17,03 ± 2,15	60,89 ± 3,01
nº 15	21,07 ± 2,47	0,68 ± 0,27	1,32 ± 0,87	9,37 ± 2,34	23,40 ± 1,49
nº 14	11,60 ± 1,96	0,53 ± 0,22	0,26 ± 0,23	2,76 ± 0,22	2,18 ± 0,71
nº 13	4,35 ± 0,83	0,34 ± 0,05	0,19 ± 0,12	0,65 ± 0,15	0,53 ± 0,09
nº 12	0,58 ± 0,14	0,13 ± 0,12	0,05 ± 0,05	0,03 ± 0,05	0,05 ± 0,04
nº 10	0,12 ± 0,09	0,09 ± 0,08	–	–	–
Recetáculo	0,01 ± 0,02	–	–	–	–

Abreviaturas: ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões.

A amostra que apresentou grãos de dimensões superiores foi a amostra RCV. Por sua vez a que apresentou dimensões inferiores foi a RAV. De acordo com Esteves & Oliveira [208], também se verificou, qual o crivo que reteve a maior percentagem de grãos. Para o café ABV e AHV foi o crivo nº 17, ATV e RAV o crivo nº 16 e RCV o crivo nº 18, respetivamente. Para os controlos, correspondentes aos cafés da espécie *C. arábica* brasileiros ABV+v (Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v) foi o crivo nº 16 que reteve mais grãos, enquanto para o ABV-v (Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v) foi o crivo nº 17. A figura 4.10 apresenta um diagrama fracionado correspondente à percentagem de grãos retidos em cada crivo para as diferentes amostras de café verde.

Tabela 4.11 - Percentagem de grãos de café verde correspondentes às amostras da espécie *C. arabica*, provenientes do Brasil, retidos em cada crivo/recetáculo das amostras.

Crivo	Massa retida em cada crivo / recetáculo (%)	
	AB+v	AB-v
nº 20	0,54 ± 0,14	1,18 ± 0,08
nº 19	1,95 ± 0,81	7,78 ± 0,31
nº 18	4,14 ± 0,04	11,76 ± 1,32
nº 17	35,67 ± 1,96	65,29 ± 2,16
nº 16	46,76 ± 1,32	12,52 ± 0,63
nº 15	7,16 ± 0,23	0,80 ± 0,27
nº 14	2,71 ± 0,43	0,48 ± 0,01
nº 13	1,06 ± 0,49	0,07 ± 0,02
nº 12	–	0,11 ± 0,05
nº 10	–	–
recetáculo	–	–

Abreviaturas: ABV+v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v; ABV-v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v.

Os resultados obtidos ilustrados na figura 4.11 permitiram verificar que o grão de café apresenta dimensões que predominantemente variam entre os crivos 18 e 14, aspeto que na industrialização deverá ser tido em consideração.

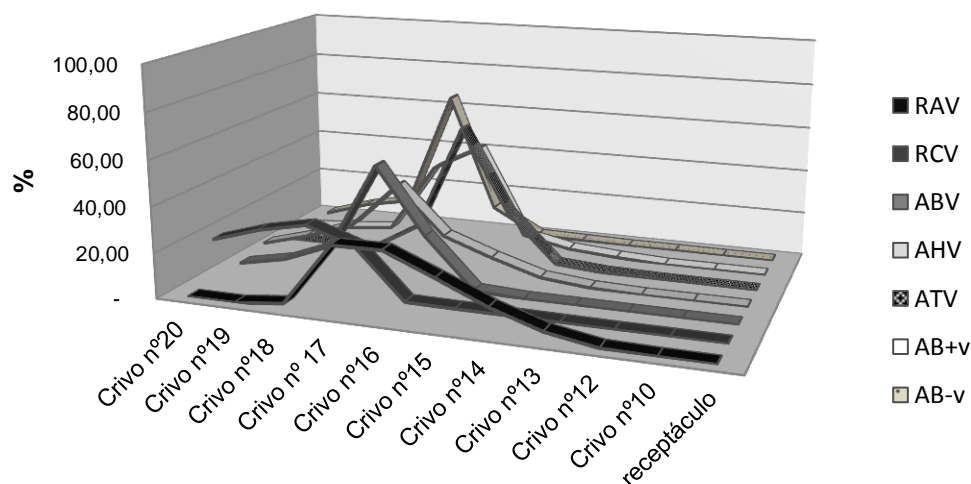


Figura 4.11 - Diagrama fracionado correspondente à percentagem de grãos retidos em cada crivo para os diferentes cafés verdes estudados. Abreviaturas: ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões; ABV+v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v; ABV-v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v.

O grau de torra deverá ser ajustado à granulometria dos grãos de modo a que não fiquem queimados. A figura 4.12 apresenta a percentagem de grão graúdo, médio e miúdo das diferentes amostras de café verde estudadas.

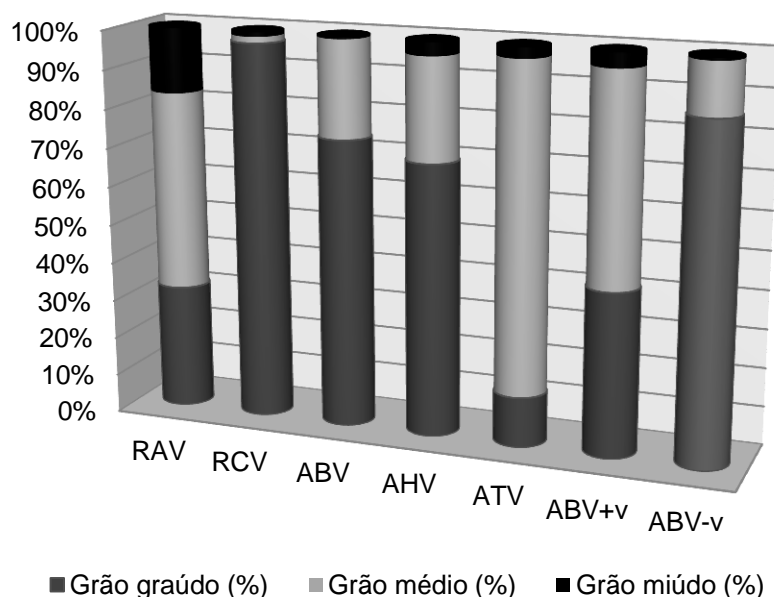


Figura 4.12 - Composição das amostras referentes às percentagens de grão graúdo, médio e miúdo nas diferentes amostras de café verde. Abreviaturas: ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões; ABV+v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v; ABV-v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v.

Quando comparadas, as amostras revelaram-se muito heterogêneas. Os cafés pertencentes à espécie *Coffea canephora*, com origem africana, apresentaram diferenças granulométricas muito significativas. O grão graúdo predominou na amostra RCV, correspondente aos grãos provenientes dos Camarões. Para os grãos provenientes de Angola RAV, o grão médio era o mais frequente e o grão miúdo, face aos restantes, encontrava-se em maior percentagem nesta amostra. O grão médio foi o predominante na amostra proveniente de Timor ATV. Os cafés da espécie *Coffea arabica*, provenientes do continente americano, apresentaram um maior teor de grão graúdo (exceto o ABV-v). Um estudo efetuado em amostras do Brasil (municípios de Barra do Choça e Encruzilhada, sudoeste da Baía) [247] apresentou resultados concordantes com os obtidos. As amostras estudadas correspondentes a grão chato graúdo variaram entre 59,36 - 61,30 %, predominando assim o grão chato graúdo nos cafés brasileiros [247]. A figura 4.13 ilustra a homogeneidade comercial das diferentes amostras em estudo.

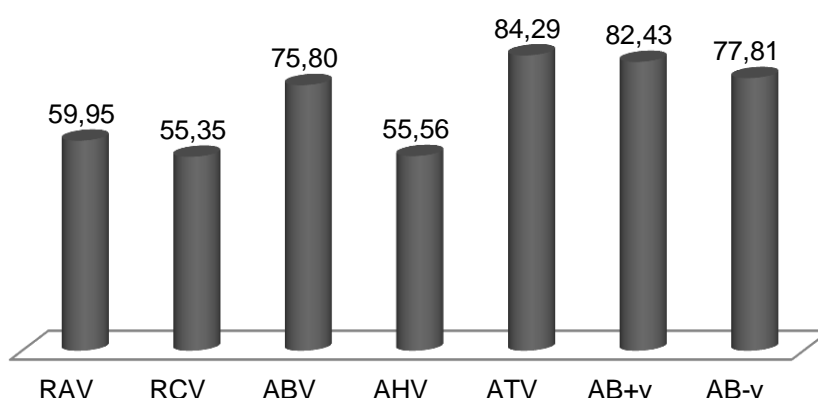


Figura 4.13 - Homogeneidade comercial (%) dos cafés verdes comerciais. Abreviações: ABV – espécie *Coffea arabica* com origem no Brasil; AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões; ABV+v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v; ABV-v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v.

A homogeneidade dos grãos de café representa um fator determinante na qualidade da torra. Quando o tamanho dos grãos varia significativamente, os grãos de menores dimensões torram mais rapidamente (podendo mesmo queimar) o que origina uma torra não uniforme e, por sua vez, um aroma e sabor desagradáveis na bebida final [248]. Neste contexto, considerando que a homogeneidade variou entre 55,35 % (RCV) e 84,29 % (ATV), constatou-se que estas amostras não apresentaram, para este parâmetro, a qualidade desejável, tal como obtido noutros estudos [219], cuja homogeneidade do café robusta foi de 97 % e o do café arábica de 94,3 %. No entanto, noutros cafés estudados também se verificou uma heterogeneidade significativa [219], tendo-se detetado uma homogeneidade comercial que variava entre 45,40 e 52,14 %, apresentando apenas uma amostra (num total de 13), 92,37 % de homogeneidade comercial. Face a heterogeneidade significativa que se detetou, e tendo como objetivo melhorar a qualidade dos grãos torrados, são recomendadas boas práticas de separação dos grãos e torras diferenciadas.

4.3.4. Massa de 1000 grãos

Os cafés verdes comerciais apresentaram resultados que variaram, entre 129,1 g para o AB+v, e 170,8 g para o RCV (tabela 4.12). Os resultados obtidos para o café arábica Timor (145,1 g) podem considerar-se similares aos obtidos por Ximenes [249], cujos valores variaram entre 124,0 e 176,0 g. Para o café arábica do Brasil, os resultados divergiram nas duas amostras. A amostra ABV-v apresentou uma massa correspondente a 150,47 g, concordante com os resultados obtidos por Coste [250], enquanto a amostra ABV+v apresentou um resultado significativamente inferior. Os verificados por Coste [250] e Bicho [219] variam entre 150 a 200 g [219, 250]. O café verde RAV, robusta de Angola apresentou 138,28 g, enquadrando-se assim nos valores verificados por Fazuoli [251] para esta espécie de café e respetiva origem (139 g).

Tabela 4.12 - Massa de 1000 grãos de café verde nas diferentes amostras de café verde comercial RAV, RCV, ATV, AHV, AB+v e AB-v.

	Massa de 1000 grãos (g)
RAV	138,28±5,23 ^c
RCV	170,80±2,94 ^a
ATV	145,10±0,75 ^b
AHV	164,21±0,75 ^a
AB+v	129,10±0,80 ^d
AB-v	150,47±1,97 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3). As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões; ABV+v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é superior à amostra ABV-v; ABV-v - Café da espécie *Coffea arabica*, proveniente do Brasil cujo aumento do volume é inferior à amostra ABV+v.

A variabilidade de massas corresponde à diferença entre o tamanho e a forma dos grãos. No entanto, apesar das diferenças verificadas, e com a exceção da amostra AB+v que apresentou um valor inferior, não são discrepantes dos resultados verificados pelos autores citados anteriormente.

4.3.5. Determinação da perda de massa por secagem

Os grãos de café robusta apresentaram, quando comparados com os de arábica, um teor de humidade ligeiramente inferior (tabela 4.13). De notar que os grãos de café submetidos a um processamento por via seca (RCV, RAV e ABV) apresentaram um teor de humidade inferior aos submetidos a via húmida (ATV e AHV). O teor de humidade variou entre 9,44 %, para a amostra RCV, e 10,76 % para a amostra AHV.

Tabela 4.13 - Teor de humidade nas diferentes amostras de café verde que constituem o *blend* final BF.

	Teor de humidade (%)
RAV	9,61 ± 0,28 ^a
RCV	9,44 ± 0,37 ^a
ABV	9,84 ± 0,08 ^a
AHV	10,76 ± 0,06 ^a
ATV	10,03± 0,84 ^a

Os valores resultaram da média ± desvio padrão (n=3). A letra (a) registada na tabela indica ausência de diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras. Abreviaturas: AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões.

Esta determinação apresenta-se como um dos parâmetros de qualidade mais críticos para o café verde comercial. Um teor superior a 12,5 % de humidade durante o armazenamento e transporte,

promove o desenvolvimento de fungos e, por sua vez, de micotoxinas, principalmente ocratoxina A [236]. Poderá igualmente dar origem a *off-flavours* na bebida.

Este parâmetro também pode considerar-se relevante em termos económicos porque o café é valorizado de acordo com o respetivo peso. No entanto, verificou-se que todas as amostras se encontram dentro dos limites recomendados pela Instrução Normativa Nº 8 de 11/6/2003 [252], e pela Resolução nº 420 de 21/05/04 da ICO [205], cujos limites são inferiores a 12,5 %.

4.3.6. Análise multivariada

A análise da tabela 4.14 indica que as duas primeiras componentes principais (CP) explicam 86,86 % da variância entre as amostras, sendo 50,60 % para a primeira componente e 36,25 % para a segunda. Apesar das 4 componentes principais, só são significativas as duas primeiras componentes principais, porque apresentam um valor próprio superior a um.

Tabela 4.14 - Valores próprios e extração de componentes principais para 5 parâmetros analíticos das amostras de café verde provenientes de 5 origens (AHV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - Café verde comercial da espécie *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - Café verde comercial da espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões).

Componente principal	Valor próprio	Variância (%)	Valor próprio acumulado	Variância acumulada (%)
1	2,53	50,60	2,53	50,60
2	1,81	36,25	4,34	86,86
3	0,63	12,50	4,97	99,36
4	0,03	0,64	5,00	100,00

Na tabela 4.15 apresentam-se os coeficientes de correlação entre as variáveis principais e as componentes principais, que realçam a importância relativa de cada variável em relação a cada uma das três primeiras componentes principais (CP1, CP2 e CP3).

Tabela 4.15 - Coeficientes de correlação entre as análises tecnológicas realizadas aos cafés verdes e as duas primeiras componentes principais.

Variáveis	CP 1	CP 2	CP 3
HC	0,76	0,17	- 0,63
MS	- 0,79	- 0,56	- 0,22
HU	0,36	- 0,90	0,23
CR	- 0,89	- 0,27	- 0,33
DF	- 0,64	0,76	0,13

As correlações significativas estão assinaladas a cinzento. As abreviaturas CP 1, CP 2 e CP 3 designam os componentes principais 1, 2 e 3, respetivamente. As abreviaturas das variáveis têm o seguinte significado: HC - homogeneidade comercial; MS - massa de 1000 grãos; HU - humidade; CR - crivo mais frequente e DF - percentagem total de defeitos.

Na figura 4.14, pode-se observar a distribuição das variáveis no Plano Principal, de acordo com a sua importância na explicação dos respectivos eixos, CP 1, CP 2 e CP 3.

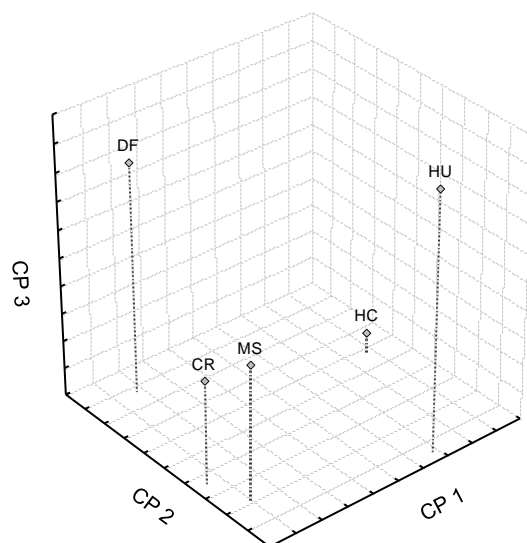


Figura 4.14 - Projeção das variáveis nos planos definidos pelas três primeiras componentes principais (CP1, CP2 e CP3). As abreviaturas das variáveis têm o seguinte significado: HC - homogeneidade comercial; MS - massa de 1000 grãos; HU - humidade; CR - crivo mais frequente e DF - percentagem total de defeitos.

O estudo permitiu verificar que a homogeneidade comercial, a massa de 1000 grãos e o crivo mais frequente encontram-se significativamente correlacionados com a primeira componente (CP1), enquanto a humidade e a percentagem total de defeitos são identificadas como variável da segunda componente (CP2). A humidade e o teor de defeitos foram superiores nas amostras de café verde comercial da espécie *Coffea canephora*, provenientes dos Camarões e Angola, RCV e RAV, respetivamente.

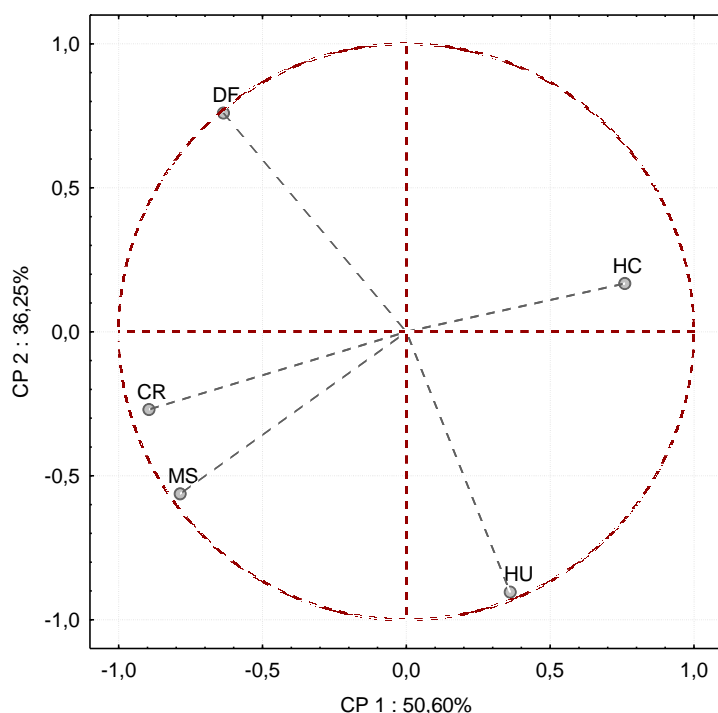


Figura 4.15 - Projeção das variáveis nos planos definidos pelas duas primeiras componentes principais (CP1 e CP2). As abreviaturas das variáveis têm o seguinte significado: HC - homogeneidade comercial; MS - massa de 1000 grãos; HU - humidade; CR - crivo mais frequente e DEF - percentagem total de defeitos.

Os resultados obtidos sugerem que o teor de humidade, a percentagem de defeitos e o crivo mais frequente, apresentam maior importância na discriminação das amostras do que a homogeneidade comercial, ou a massa de 1000 grãos (figura 4.16). O teor de humidade nos cafés verdes está diretamente relacionado com o processamento. Os cafés submetidos ao processamento por via húmida apresentam maior teor de humidade e por sua vez menor percentagem de defeitos.

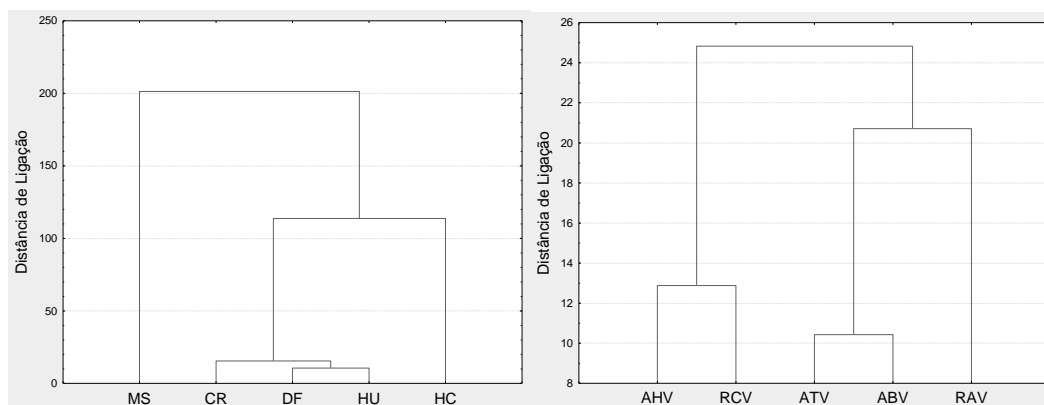


Figura 4.16 - Dendrograma das variáveis MS (massa de 1000 grãos), CR (crivo mais frequente) DF (percentagem de defeitos), HU (humidade) e HC (homogeneidade comercial) com base nas distâncias euclidianas entre elas (à esquerda). Dendrograma das amostras de café verde comercial, AHV - espécie *Coffea arabica* com origem nas Honduras; ATV - *Coffea arabica* com origem em Timor; RAV - espécie *Coffea canephora* com origem em Angola e RCV - espécie *Coffea canephora* com origem nos Camarões, considerando as variáveis referidas, com base nas distâncias euclidianas entre elas (à direita).

O café arábica Timor ATV apresentou uma qualidade superior devido ao menor teor de defeitos e maior homogeneidade comercial; por sua vez o AHV não apresentou a qualidade desejada devido ao teor elevado de grãos verdes (imaturos) que proporcionaram uma baixa homogeneidade comercial. O café robusta verde do continente africano apresenta para as 2 origens africanas RAV e RCV discrepâncias muito evidentes principalmente nas características físicas dos grãos correspondentes à sua dimensão (crivo mais frequente e massa de 1000 grãos). Estas variáveis foram determinantes para a seleção das torras diferenciadas interferindo no binómio tempo / temperatura aplicado.

4.4. Café torrado – Características físicas, tecnológicas e químicas

4.4.1. Massa volúmica compactada

A massa volúmica compactada constitui um parâmetro relevante para o acondicionamento do café nos diversos tipos de embalagens, para corresponderem à massa especificada na rotulagem e, no caso das cápsulas, para a extração da bebida pretendida. Verificou-se que o café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras (AHT) apresentou maior massa volúmica compactada, com diferença significativa relativamente aos outros cafés (tabela 4.16). Por oposição, o café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões (RCT) apresentou uma massa volúmica compactada inferior a todas as outras amostras.

Tabela 4.16 - Massa volúmica compactada nas diferentes amostras de café torrado e moído (moagem universal).

	RAT	RCT	ABT	AHT	ATT
Massa volúmica compactada (g/cm ³)	0,482±0,000 ^b	0,471±0,000 ^d	0,475±0,000 ^c	0,487±0,000 ^a	0,483±0,000 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3). As diferentes letras (a, b, c, d) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café torrado. As abreviaturas têm o seguinte significado: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor e ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil.

4.4.2. Aumento de volume com a torra

O aumento de volume do grão de café com a torra varia consoante a respetiva intensidade. O aumento de volume, que variou entre 19,05 - 89,24 % para as amostras estudadas (tabela 4.17), revelou ainda que torras mais claras proporcionam um aumento de volume inferior às mais escuras. De acordo com Coste [250], os valores médios para o aumento de volume com a torra situam-se entre 50 - 80 %, tendo valores extremos de 30 e 100 %.

Tabela 4.17 - Aumento de volume do grão de café torrado.

Amostra	Aumento de volume (%)
ABT-v	70,16 ± 1,09 ^b
ABT+v	89,24 ± 0,65 ^a
RCT	28,20 ± 1,19 ^e
RAT	19,05 ± 0,86 ^f
AHT	56,10 ± 2,12 ^d
ATT	54,32 ± 1,00 ^d
ABT	61,27 ± 2,03 ^c

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3). As diferentes letras (a, b, c, d, e) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café. Abreviaturas: ABT-v - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil e cujo aumento de volume após a torra foi inferior à amostra ABV+v; ABT+v - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil e cujo aumento de volume após a torra foi superior ao ABT-v; RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor e ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil.

O aumento de volume com a torra variou consideravelmente entre espécies, origens botânicas, teor de humidade e grau de torra. Os cafés robustas torrados da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola (RAT) e Camarões (RCT) apresentaram um aumento de volume inferior, principalmente face ao grau de torra. As amostras submetidas a um processamento via húmida no país de origem correspondentes às amostras de café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor (ATT) e nas Honduras (AHT) apresentaram um aumento de volume sem diferenças significativas. Os cafés

do Brasil evidenciaram claramente um aumento de volume superior em todas as amostras (tabela 4.17). Verificaram-se ainda diferenças significativas ao nível de 5 % ($p \leq 0,05$), nas amostras de café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil e cujo aumento do volume após a torra foi superior ao ABT-v (ABT+v) e de café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil e cujo aumento do volume após a torra foi inferior à amostra ABV+v (ABT-v). Estas amostras são da mesma espécie e origem, tendo sido submetidas ao mesmo grau de torra. Assim, outros fatores nomeadamente a variedade, processamento, tamanho e estrutura do grão poderão estar na origem das diferenças do aumento de volume, verificadas nessas duas amostras. A nível industrial, um aumento substancial de volume poderá implicar consequências negativas na embalagem dos cafés, subsistindo o risco das embalagens não acondicionarem o peso especificado na rotulagem.

Relativamente ao aumento de volume originado pela torra, as características dos grãos deverão ser consideradas, tal como outros parâmetros especificados pelos clientes.

4.4.3. Perda de massa na torra

A perda de massa para grãos de café submetidos a torras médias e médias-claras variaram entre 15 e 22 % (tabela 4.18), estando dentro do intervalo de valores citados por Matiello [253] correspondente a valores entre 13 e 20 % para torras médias.

Tabela 4.18 - Perda de massa dos grãos na torra nas diferentes amostras que constituem o BF (RAT, RCT, AHT e ATT) e 2 amostras teste (ABT-v e ABT+v).

Amostra	Perda de massa na torra (%)
ABT-v	15,56 ± 0,09 ^c
ABT+v	18,08 ± 0,99 ^b
RCT	16,87 ± 0,63 ^b
RAT	21,64 ± 0,90 ^a
AHT	16,39 ± 0,12 ^b
ATT	16,61 ± 0,26 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3). As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. As abreviaturas têm o seguinte significado: ABT-v - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil e cujo aumento do volume após a torra foi inferior à amostra ABV+v; ABT+v - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil e cujo aumento do volume após a torra foi superior ao ABT-v; RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras e ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor.

Os grãos que apresentaram uma maior percentagem de perda de massa foram os grãos RAT. Caracterizavam-se por uma granulometria consideravelmente inferior às restantes amostras (crivo 16), o que se traduz, apesar da torra desta amostra ser média clara, numa maior área de exposição à torra. As restantes amostras que compõem o BF não apresentaram diferenças significativas; no entanto constatou-se uma diferença significativa entre as duas amostras de café arábica do Brasil

(ABT-v e ABT+v). A percentagem de perda de massa na torra foi superior na ABT+v, que foi também a que apresentou um aumento de volume superior.

4.4.4. Perda de massa por secagem

A determinação da perda de massa por secagem pretendeu verificar se os cafés submetidos à industrialização apresentavam no final um teor de humidade dentro dos limites máximos legislados. A tabela 4.19 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 4.19 - Teor de humidade nas diferentes amostras de café torrado em grão (RCT, RAT, AHT, ATT e ABT) que constituem o BF.

Amostra	Teor de Humidade (%)
RCT	2,09 ± 0,02 ^b
RAT	2,50 ± 0,16 ^a
AHT	2,05 ± 0,02 ^b
ATT	1,98 ± 0,02 ^b
ABT	1,61 ± 0,02 ^c

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n = 2). As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor e ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil.

O teor de humidade no grão, para todas as amostras de café torrado permaneceu dentro do limite máximo legislado, isto é, de acordo com o Decreto-lei nº 53/89 de 22 de Fevereiro [252], inferior a 5 %.

4.4.5. Determinação da cor

Procedeu-se à determinação da cor das matérias-primas, cafés do mercado, bebidas de café expresso e respetivo creme utilizando o sistema cromático L*, a*, b*, e L*C*H*. Para o efeito, foi utilizado o iluminante D65.

A coordenada L* tem sido considerada mais indicada para caracterizar a intensidade da torra [49, 219, 255]. De facto, verifica-se uma relação entre o escurecimento do café, que varia de 0 a 100, bem como uma correlação inversa entre os valores de luminosidade L* e o grau de torra (tabela 4.20). As amostras de torra média / clara correspondente aos cafés robusta de Angola e dos Camarões (RAT e RCT) apresentaram resultados superiores de “b” (intensidade de amarelo), quando comparados com os resultados obtidos pelas amostras de torra média correspondente aos cafés arábica de Timor, Brasil e Honduras (ATT, ABT e AHT). Além disso, as amostras de torra clara, também apresentaram valores de “L” superiores, indicando uma crescente opacidade. As amostras de torra clara apresentaram maior luminosidade e intensidade de amarelo. A luminosidade decresceu com a intensificação do grau de torra tal como evidenciado por outros autores [236].

Tabela 4.20 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos das amostras de café torrado moído.

Amostra	Coordenadas obtidas com o iluminante D65				
	L*	a*	b*	C*	H°
ATT	36,80±0,36 ^d	6,33±0,17 ^b	6,10±0,28 ^d	8,79±0,31 ^d	43,96±0,55 ^d
AHT	37,21±0,05 ^c	6,62±0,06 ^b	6,77±0,05 ^c	9,46±0,07 ^c	45,64±0,09 ^c
ABT	37,70±0,05 ^b	7,33±0,41 ^a	7,80±0,07 ^b	10,71±0,31 ^a	46,78±1,48 ^c
RAT	38,32±0,17 ^a	7,11±0,04 ^a	8,24±0,14 ^a	10,88±0,13 ^a	49,23±0,31 ^b
RCT	38,50±0,22 ^a	6,60±0,30 ^b	8,36±0,23 ^a	10,66±0,07 ^a	51,74±2,01 ^a
Blend 1	36,82±0,06 ^d	5,99±0,04 ^c	6,09±0,05 ^d	8,54±0,05 ^d	45,46±0,23 ^c
Blend 2	37,34±0,10 ^c	6,34±0,05 ^b	6,75±0,09 ^c	9,26±0,08 ^c	46,78±0,36 ^c
Blend 3	37,98±0,15 ^b	6,71±0,11 ^b	7,72±0,22 ^b	10,23±0,23 ^b	49,01±0,39 ^b
CTBF	37,62±0,09 ^b	6,89±0,10 ^a	7,42±0,11 ^b	10,12±0,15 ^b	47,14±0,05 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3). As diferentes letras (a, b, c, d) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil, Blend 1 – Blend composto por 25 % café robusta e 75 % café arábica, Blend 2 – Blend composto por 50 % café robusta e 50 % café arábica, Blend 3 – Blend composto por 75% café robusta e 25% café arábica, CTBF – Blend de café selecionado para constituir o *blend* final (BF) com 70 % café robusta e 30 % café arábica.

Relativamente aos três *blends* formulados (*blends* 1, 2 e 3), verifica-se que a luminosidade e a cromaticidade aumentam com a adição de café robusta (torra média clara). Considerando estes parâmetros, o *blend* de café formulado com 70 % de café robusta e 30 % de café arábica (CTBF) situa-se entre o *blend* composto por 50 % café robusta e 50 % café arábica (*Blend* 2) e o *blend* constituído por 75 % café robusta e 25 % café arábica (*Blend* 3), cuja composição é de 50 % e 75 % respetivamente. Os resultados são concordantes com as intensidades das torras, o que confirma que o objetivo de industrialização foi cumprido na medida em que a cor da torra foi bem conseguida. As torras médias claras nos cafés robustas apresentaram valores correspondentes à luminosidade entre 38,3 e 38,5 e de tonalidade entre 49,2 e 51,7. Por sua vez as torras médias definidas para os cafés arábica apresentaram uma luminosidade e tonalidade mais baixas a variar entre 36,8 - 37,7 e 45,6 – 49,2, respetivamente. A formulação dos *blends* de café torrado nas percentagens pré-definidas (*Blend* 1, *Blend* 2, *Blend* 3 e CTBF) foi devidamente homogeneizado como comprovam os valores dos parâmetros (L*, a*, b*, C* e H*), proporcionais à adição de café de torras mais claras. Verificou-se que as amostras constituídas por percentagem superior de café robusta apresentavam uma luminosidade e tonalidade superiores às constituídas por percentagens inferiores destes cafés de torra média clara.

4.5. Matérias-Primas, cafés do mercado português, *blend* final e controlos

4.5.1. Determinação da cor

As matérias-primas que incorporam o *blend* vão determinar a respetiva cor do produto final. Vários pontos de cor branca / amarela (dourada) identificam a incorporação do café dourado e da pele de

prata na variação da cor do *blend* final BF. A tabela 4.21 apresenta os resultados obtidos por colorimetria para as matérias-primas adicionadas à formulação final do *blend* final BF.

Tabela 4.21 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos das matérias-primas (pele de prata, cacau e café dourado) que constituem o *blend* final BF.

Coordenadas com iluminante D65					
Amostras	L*	a*	b*	C*	H°
Pele de prata	55,87 ± 0,46	2,72 ± 0,05	16,25 ± 0,17	16,48 ± 0,16	80,50 ± 0,21
Cacau	45,17 ± 0,20	9,48 ± 0,12	13,06 ± 0,27	16,14 ± 0,29	54,04 ± 0,23
Café Dourado	67,26 ± 0,13	1,68 ± 0,08	18,69 ± 0,16	18,77 ± 0,16	84,86 ± 0,23

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3).

A pele de prata e o café dourado apresentam uma luminosidade característica. O café dourado apresentou uma luminosidade de 67,26, que é relativamente mais baixa do que a obtida por Bicho [219] para um café robusta verde moído (75,29). Este decréscimo poderá justificar-se considerando o tratamento de secagem efetuado que proporcionou uma perda de massa (humidade) no café verde moído. As restantes coordenadas apresentam-se também em concordância, com b* (contribuição do amarelo / azul) a sobressair em detrimento de a* (contribuição de verde / vermelho). O cacau apresenta um valor para a coordenada a* que é superior a todas as outras amostras, aspeto que decorre dos tons castanhos avermelhados do cacau. Na tabela 4.22 são apresentados os resultados obtidos pela análise colorimétrica das amostras de café torrado e moído adquiridas no mercado português.

Tabela 4.22 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos das amostras de café torrado adquiridas no mercado português e o *blend* final BF.

Coordenadas com iluminante D65					
Amostras	L*	a*	b*	C*	H°
AS	36,65±0,16 ^c	5,02±0,09 ^c	6,08±0,06 ^b	7,89±0,07 ^c	50,49±0,58 ^a
NV	35,73±0,11 ^d	4,40±0,07 ^c	4,06±0,08 ^c	5,98±0,10 ^d	42,72±0,36 ^d
DCH	37,24±0,77 ^c	5,57±0,70 ^b	6,41±0,80 ^b	8,49±1,06 ^b	49,00±0,39 ^b
BF	38,21±0,24 ^b	5,48±0,01 ^b	6,88±0,11 ^b	8,79±0,08 ^b	51,45±0,48 ^a
NG	39,13±0,10 ^a	8,58±0,05 ^a	9,69±0,13 ^a	12,94±0,12 ^a	48,45±0,23 ^b
QAL	37,36±0,07 ^c	6,03±0,06 ^b	6,29±0,11 ^b	8,71±0,12 ^b	46,18±0,27 ^c
TSS	37,85±0,06 ^b	5,95±0,08 ^b	6,91±0,06 ^b	9,12±0,08 ^b	49,27±0,36 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3). As diferentes letras (a, b, c, d) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. Abreviaturas: AS - café do mercado rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina, BF - *blend* final, DCH - café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimballi*, NV - café do mercado enriquecido com vitaminas, NG - café solúvel, com 65% de café torrado e 35% de café verde, QAL - café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*, TSS - café do mercado constituído com café torrado e pele de prata, acondicionado sob o formato de pastilha.

Nas amostras adquiridas no mercado português verifica-se que a correspondente ao café com vitaminas (NV) apresenta todos os resultados correspondentes aos parâmetros colorimétricos mais baixos. Esta amostra corresponde a uma torra mais escura quando comparada com as outras amostras estudadas.

O café solúvel (NG), dadas as características do café torrado solúvel e café verde solúvel, apresenta, tal como esperado, coordenadas L^* , a^* , b^* e C^* superiores. No entanto a sua tonalidade não aumenta.

O café rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina (AS) apresenta uma torra clara o que se evidencia em H° . As amostras DCH e TSS apresentam tonalidades e luminosidades idênticas (características de torras médias). A amostra QAL apresenta uma tonalidade mais escura (com valor correspondente a 46,18) que poderá ser explicada pela presença de torrefacto na sua constituição. De referir que o BF apresenta uma tonalidade mais clara que decorre da existência de pontos dourados no café torrado e moído.

A tabela 4.23 apresenta os resultados obtidos respeitantes aos parâmetros colorimétricos das bebidas de café expresso extraídas por 3 máquinas diferentes.

Tabela 4.23 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos das bebidas extraídas do BF, controlos (DCH e QAL) e amostras do mercado (AS e TSS) extraídas pelas diferentes máquinas (*Briel*, *DQOOL* e *La Cimbali*).

Amostras	Coordenadas com iluminante D65				
	L^*	a^*	b^*	C^*	H°
BFBriel	24,42±0,69 ^b	1,98±0,52 ^a	2,38±0,80 ^b	3,10±0,94 ^b	49,61±2,97 ^b
DCHBriel	24,33±0,34 ^b	2,00±0,40 ^a	2,48±0,43 ^b	3,18±0,59 ^b	51,22±1,01 ^a
QALQOOL	24,60±0,19 ^b	2,57±0,31 ^a	2,97±0,16 ^b	3,93±0,32 ^a	49,20±2,08 ^b
BFQOOL	24,66±0,21 ^b	2,70±0,26 ^a	3,07±0,28 ^b	4,09±0,38 ^a	48,68±0,25 ^b
DCHLaCimbali	24,84±0,04 ^b	2,88±0,10 ^a	3,26±0,16 ^a	4,35±0,19 ^a	48,49±0,44 ^b
BFLaCimbali	24,62±0,19 ^b	2,60±0,06 ^a	2,97±0,11 ^b	3,95±0,05 ^a	48,79±1,70 ^b
ASBriel	26,71±0,72 ^a	3,35±0,56 ^a	5,10±0,98 ^a	6,10±1,12 ^a	56,68±0,65 ^a
TSSBriel	24,92±0,43 ^b	2,27±0,29 ^a	3,17±0,51 ^a	3,90±0,58 ^a	54,39±0,89 ^a

Os resultados apresentados correspondem à média \pm desvio padrão ($n=3$). As diferentes letras (*a*, *b*) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. Abreviaturas: BFBriel – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *Briel*; DCHBriel – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *Briel*; BFQOOL – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *DQOOL*; QALQOOL – bebida de café expresso correspondente ao controlo QAL extraída pela máquina *DQOOL*; BFLaCimbali – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *La Cimbali*; DCHLaCimbali – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *La Cimbali*; ASBriel – bebida de café expresso correspondente ao café do mercado AS e extraída pela máquina *Briel*; TSSBriel – bebida de café expresso correspondente ao café do mercado TSS e extraída pela máquina *Briel*.

A luminosidade de todas as amostras de bebidas apresenta um valor superior à verificada num estudo efetuado por Altaki *et al.* [196] que sugere que bebidas provenientes de café submetido a

torras escuras e intensas apresentam um teor de furanos, que pode atingir 244 ng/mL, o que não se verifica nas amostras estudadas devido às torras médias claras e médias. Os parâmetros analisados nas bebidas apresentam valores mais baixos que os cafés torrados moídos. Para os parâmetros a^* e b^* , os resultados são relativamente baixos, mas superiores aos das bebidas extraídas a partir de formulações que contém café torrefacto, cujos parâmetros a^* e b^* se aproximam do 0, enquanto que o L^* varia entre 19,73 e 21,64 [49], consideravelmente inferior aos resultados obtidos que variaram entre 24,33 e 26,71.

A luminosidade das amostras, possivelmente pelos extratos apresentarem uma cor mais intensa dos sólidos do cacau, apresentou-se mais elevada para o creme cuja torra era mais clara na ASBriel e mais escura na BFBriel. No entanto, esta mesma bebida apresenta um resultado de tonalidade (77,02) superior às restantes (tabela 4.24). Verificou-se um creme mais claro nas bebidas de café expresso respeitantes ao *blend* final BF (em relação aos controlos) nas extrações efetuadas pelas máquinas Briel e DQOOL. Na máquina La Cimbali as amostras do BF apresentaram uma cor mais escura no creme. Pode assim constatar-se que a pressão das máquinas de café expresso proporciona uma diferenciação na cor do creme (i. e., quanto maior for a pressão mais escura será a cor do creme).

Tabela 4.24 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos do creme de cada café expresso BF, controlos (DCH e QAL) e amostras do mercado (AS e TSS) extraídas pelas diferentes máquinas (Briel, DQOOL e La Cimbali).

Amostras	Coordenadas com iluminante D65				
	L^*	a^*	b^*	C^*	H°
BFBriel	49,44±0,71 ^b	5,02±0,80 ^b	21,70±0,74 ^c	22,28±0,90 ^c	77,02±1,57 ^a
DCHBriel	50,22±1,60 ^a	5,90±0,12 ^b	23,09±1,18 ^b	23,83±1,17 ^b	75,65±0,41 ^a
ASBriel	53,30±1,67 ^a	5,83±0,56 ^b	24,93±0,35 ^a	25,52±0,46 ^a	76,81±1,04 ^a
TSSBriel	50,67±1,02 ^a	7,07±0,36 ^a	25,20±0,95 ^a	26,17±1,00 ^a	74,32±0,42 ^b
DCHLaCimbali	50,10±0,62 ^a	5,54±0,06 ^b	21,44±0,33 ^c	22,15±0,33 ^c	75,52±0,12 ^a
BFLaCimbali	52,47±0,38 ^a	6,44±0,30 ^a	24,11±0,37 ^b	24,96±0,43 ^b	75,06±0,48 ^a
QALQOOL	51,16±0,41 ^a	7,43±0,15 ^a	26,09±0,12 ^a	27,13±0,15 ^a	74,11±0,25 ^b
BFQOOL	52,42±1,88 ^a	6,39±0,73 ^a	24,53±0,47 ^a	25,35±0,56 ^a	75,42±1,50 ^a

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3). As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. Abreviaturas: BFBriel – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina Briel; DCHBriel – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina Briel; ASBriel – bebida de café expresso correspondente ao café do mercado AS e extraída pela máquina Briel; TSSBriel – bebida de café expresso correspondente ao café do mercado TSS e extraída pela máquina Briel; DCHLaCimbali – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina La Cimbali; BFLaCimbali – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina La Cimbali; QALQOOL – bebida de café expresso correspondente ao controlo QAL extraída pela máquina DQOOL; BFQOOL – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina DQOOL.

A Figura 4.17 apresenta as amostras de café estudadas na determinação da cor, constituídas pelo creme do café expresso, a bebida e a amostra em pó antes da extração.



Figura 4.17 - Amostras preparadas para determinação da cor (creme, bebida e pó) do *blend* final BF.

O controlo QAL correspondente à cápsula para extração em máquina DQOOL apresentou uma tonalidade inferior às restantes amostras (café moído, bebida e creme), o que poderá ser explicado por ser a amostra que apresenta uma moagem mais fina e tem café torrefacto na sua composição (tabela 4.25).

Tabela 4.25 - Resultados das análises efetuadas aos parâmetros colorimétricos H^0 (tonalidade) do *blend* final e respetivos controlos para comparação das extrações efetuadas pelas 3 máquinas (*Briel*, *La Cimbali* e *DQOOL*).

Amostra	Café torrado moído (pó)	Bebida			Creme		
		<i>Briel</i>	<i>La Cimbali</i>	<i>DQOOL</i>	<i>Briel</i>	<i>La Cimbali</i>	<i>DQOOL</i>
BF	50,59±1,04 ^a	49,61±1,19 ^b	48,79±1,70 ^b	48,68±0,25 ^b	77,02±1,40 ^a	75,06±0,68 ^a	75,42±1,51 ^a
DCH	49,00±0,37 ^b	51,22±1,01 ^a	48,49±0,44 ^b	-----	75,65±0,41 ^a	74,11±0,52 ^b	-----
QAL	46,18±0,27 ^c	-----	-----	49,20±0,23 ^b	-----	-----	74,11±0,25 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3).

A tonalidade do creme apresentou-se mais clara na extração pela máquina *Briel* do que na *La Cimbali* uma vez que a pressão da máquina profissional é superior à doméstica. Isso faz com que um maior teor de compostos solúveis sejam extraídos e, por sua vez, se forme um creme mais escuro.

Foi considerado o parâmetro tonalidade (H^0) para comparar as amostras. Tal como a luminosidade decresceu com a intensidade da torra, também a tonalidade das amostras foi proporcional na formulação dos diferentes *blends*, cujos parâmetros cromáticos variaram com a sua composição. O *blend* final diferenciou-se dos controlos por apresentar uma tonalidade mais clara no café torrado moído devido à incorporação da pele de prata, do café dourado e do cacau. O creme apresentou uma tonalidade mais clara nas bebidas do BF extraídas pelas diferentes máquinas quando comparadas com as bebidas dos controlos.

Os resultados obtidos para a diferença de cor (ΔE) do BF foram de 0,3 para as amostras de café torrado moído. As ΔE para as bebidas de café expresso extraídas nas diferentes máquinas foram: 0,46 para a *DQOOL*, 2,23 para *Briel* e 0,23 para a *La Cimbali*. Relativamente ao creme dessas bebidas, os resultados foram respetivamente 4,01, 2,28 e 0,94. Verifica-se que a homogeneidade da cor no café expresso e respetivo creme, é mais uniforme na extração pela *La Cimbali*.

4.5.1.1. Análise multivariada

A tonalidade das diferentes composições do café foi comparada entre as amostras de café sólido, respetivas bebidas e cremes resultantes da extração pelas máquinas *La Cimbali*, *DQOOL* e *Briel*. Verificou-se que o creme está significativamente correlacionado com a CP 1 e está moderadamente com o pó (tabela 4.26). Por sua vez a bebida apresenta-se como variável da CP 2.

Tabela 4.26 - Coeficientes de correlação entre as 1ª, 2ª e 3ª componentes principais (CP 1, CP 2 e CP 3) e as variáveis pó, bebida e creme para o parâmetro tonalidade (H°).

Variáveis	CP 1	CP 2	CP 3
Pó	-0,759	0,600	0,251
Bebida	-0,683	-0,702	0,202
Creme	-0,936	0,025	-0,351
Valor próprio	1,91	0,85	0,23
Variância (%)	63,97	21,46	7,55

Para estas variáveis apesar das diferentes extrações, a tonalidade das amostras de BF apresentou-se semelhante e diferenciada das restantes bebidas de café expresso (Figura 4.18).

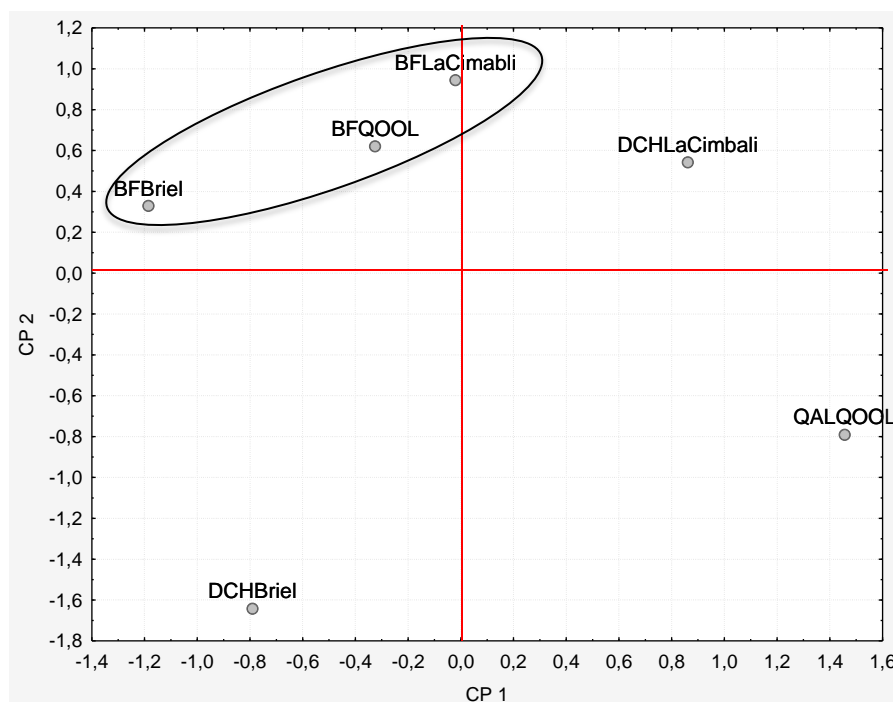


Figura 4.18 - Projeção das amostras correspondentes às bebidas de café expresso pelas variáveis nos planos definidos pelas 1ª e 2ª componentes principais (CP1 e CP2). Abreviaturas: BFBriel – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *Briel*; DCHBriel – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *Briel*; BFQOOL – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *DQOOL*; QALQOOL – bebida de café expresso correspondente ao controlo QAL extraída pela máquina *DQOOL*; BFLaCimbali – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *La Cimbali*; DCHLaCimbali – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *La Cimbali*.

Para o BF verificou-se uma menor distância de ligação na extração pelas máquinas *La Cimbali* e *DQOOL* em relação à *Briel* (Figura 4.19). As amostras do BF apesar das extrações nas diferentes máquinas apresentam uma distância de ligação diferenciada das outras amostras (QALQOOL, DCHBriel e DCHLaCimbali) que discriminam a bebida composta por uma tonalidade influenciada pelas matérias-primas pele de prata, café dourado e cacau.

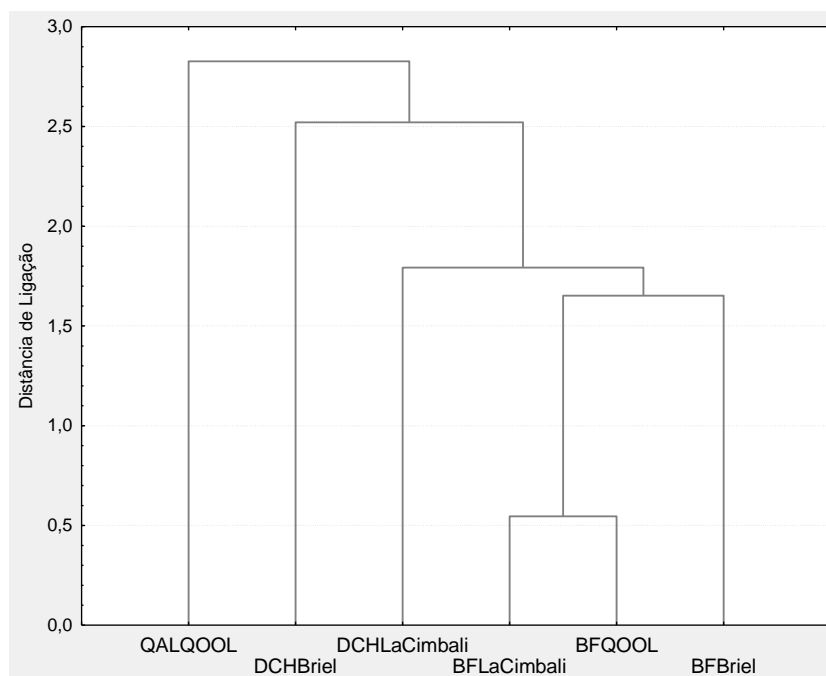


Figura 4.19 - Dendrograma das amostras de bebidas considerando a tonalidade do pó de café torrado moído, da bebida de café expresso (fase líquida) e do creme após extrações em diferentes máquinas. Abreviaturas: BFBriel – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *Briel*; DCHBriel – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *Briel*; BFQOOL – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *DQOOL*; QALQOOL – bebida de café expresso correspondente ao controlo QAL extraída pela máquina *DQOOL*; BFLaCimbali – bebida de café expresso correspondente ao *blend* final extraída pela máquina *La Cimbali*; DCHLaCimbali – bebida de café expresso correspondente ao controlo DCH extraída pela máquina *La Cimbali*.

4.5.2. pH

Os resultados obtidos para os cafés torrados das diferentes origens e torras diferenciaram os cafés robusta de torra média clara dos cafés arábica de torra média (tabela 4.27). Os primeiros apresentaram um pH mais alto.

Tabela 4.27 - Níveis de pH nas amostras de café torrado correspondentes às espécies e origens selecionadas para formular o *blend* final BF.

	pH
RAT	5,79 ± 0,05 ^a
RCT	5,68 ± 0,02 ^a
ABT	5,53 ± 0,02 ^b
AHT	5,33 ± 0,00 ^c
ATT	5,30 ± 0,01 ^c

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=2). As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café torrado. Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras e ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor.

As diferenças entre o processamento por via seca e via húmida são evidentes. A amostra ABT, correspondente ao café arábica do Brasil, submetido a um processamento por via seca apresentou um pH significativamente superior aos outros cafés arábica que foram obtidos a partir de um processamento por via húmida. O resultado obtido foi semelhante ao descrito por Bicho *et al.* [236] para o café arábica do Brasil submetido a torra escura (com um valor 5,45).

A decomposição de ácidos ocasiona um aumento do pH, aproximadamente para 6,0, em bebidas de café de torra clara. Estas bebidas apresentam impalatabilidade e um *flavour* desagradável. O pH das torras médias e escuras corresponde a 5,1 e 5,3, respetivamente. Note-se que os cafés de torras consideradas ótimas são obtidos logo no início da perda de voláteis (principalmente o ácido acético), dando origem a bebidas pouco ácidas [244].

A determinação do pH evidenciou um carácter mais intenso dos cafés robusta com uma torra média-clara e uma acidez inferior à dos cafés arábica com torra média. As matérias-primas que constituem o BF apresentaram valores de pH que variam entre 5,53 e 5,85 evidenciando, do ponto de vista sensorial e de acordo com Pimenta [244], um pH correspondente a torras ótimas.

A tabela 4.28 apresenta os níveis de pH das matérias-primas que constituem o BF.

Tabela 4.28 - Níveis de pH das matérias-primas isoladas que constituem o BF.

Matérias-primas	pH
Café dourado	5,78 ± 0,03
CTBF	5,53 ± 0,01
Pele de prata	5,85 ± 0,01
Cacau	5,69 ± 0,01

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=2). Abreviatura: CTBF – café torrado utilizado na formulação do *blend* final (BF) constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica.

O café dourado apresenta um valor de pH semelhante ao RAT (tabela 4.28). De referir que o único fator que distingue estes 2 cafés é o tipo de tratamento, o primeiro foi submetido a um tratamento de secagem e o segundo a uma torra média clara. No entanto apesar do processamento diferenciado, o valor de pH não sofreu alterações significativas. Os valores de pH para o café são similares aos verificados por outros autores [48, 236]. De facto, de acordo com um estudo realizado por Moon *et al.* [48], os valores de pH para café verde podem variar entre 5,68 e 5,85 e os cafés torrados entre 5,41 e 5,79. No entanto, acresce ainda que quando se realizam diferentes graus de torra, verifica-se um decréscimo gradual no pH da torra clara para a torra média e depois um aumento para a torra escura, o que diferencia os níveis de pH para diferentes torras de café [48, 236].

Um pH muito baixo pode indicar sementes de cacau de menor qualidade [239]. Sementes de cacau seco e torrado com baixos valores de pH (4,75 - 5,19), obtiveram, piores resultados na análise sensorial relativamente a outros cacaos com pH's superiores [256]. Valores inferiores a 4,5 diminuem o potencial aromático da semente de cacau. Um processo de secagem lento promove a perda de ácidos voláteis e água e, por sua vez, aumenta o pH. O oposto verifica-se em secagens rápidas: ao fim de 2 dias de secagem o pH diminui significativamente para 4,7. Secagens rápidas com temperaturas de 60 °C proporcionam uma concentração de ácidos (acético, propiónico, isobutírico e isoaléico) nas sementes de cacau [257]. Temperaturas mais baixas (47 °C) originam uma menor concentração de ácidos e, por sua vez, um pH mais alto e mais desejável [239]. O pH do cacau apresentou um valor de 5,69. Este resultado no que diz respeito à acidez, poderá corresponder a uma ótima qualidade sensorial [256].

Não se verificaram diferenças significativas entre o *blend* final BF e os controlos (Tabela 4.29). O pH determinado para os três *blends* é característico e está de acordo com os resultados obtidos por outros autores [236].

Tabela 4.29 - Níveis de pH nos *blends* de café BF e respetivos controlos.

	pH
BF	5,43±0,00 ^a
DCH	5,50±0,01 ^a
QAL	5,42±0,04 ^a

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=2). A letra (a) indica ausência de diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café. Abreviaturas: BF - *Blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - Café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*; QAL - Café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*.

As bebidas de café expresso apresentaram um pH ligeiramente inferior ao obtido por Albanese *et al.* [98], cujos cafés expresso preparados de forma semelhante apresentaram resultados compreendidos entre 5,48 e 5,65. Os valores obtidos apresentaram diferenças significativas entre as amostras (tabela 4.30). A amostra BF, ao contrário do que se verifica para outros parâmetros analíticos, não apresenta diferenças significativas nos valores de pH correspondentes às extrações pelas máquinas *Briel* e

DQOOL (Tabela 4.30). Refira-se que o pH dos cafés expresso varia com a temperatura de extração da bebida, pois quanto maior a temperatura de extração menor o pH da bebida [98]. Os valores obtidos na bebida correspondente ao controlo QAL poderão ter sido influenciados pelo café torrefacto que contém extrato de alfarroba. De notar que a farinha de alfarroba torrada apresenta um pH próximo de 4,81 [258], o que poderá influenciar ligeiramente a redução do pH face a cafés não torrefactos.

Tabela 4.30 - Níveis de pH nas bebidas de café expresso extraídas pelas máquinas DQOOL e Briel para o *blend* final BF e respetivos controlos (QAL e DCH).

	pH
DCHBriel	5,57 ± 0,01 ^a
BFBriel	5,36 ± 0,01 ^c
QALQOOL	5,41 ± 0,01 ^b
BFQOOL	5,38 ± 0,01 ^c

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3). As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café.

Comparativamente aos cafés arábica, os resultados de pH foram superiores nos cafés robusta. O pH das bebidas correspondentes ao *blend* final BF (BFBriel e BFQOOL) foi inferior ao dos controlos DCH (DCHBriel) e QAL (QALQOOL).

4.5.3. Sólidos solúveis

Os sólidos solúveis são determinantes para a qualidade da bebida. Para além da sua quantidade influenciar o rendimento industrial na produção de café solúvel, também contribui para o corpo da bebida, parâmetro considerado fundamental a nível sensorial [259].

Os valores obtidos foram inferiores aos obtidos por Bicho *et al.* [236] para cafés arábica e robusta, cujos valores variaram entre 26,2 - 31,4 % para diferentes torras. Verificou-se um aumento do teor de sólidos solúveis com o aumento da torra (Tabela 4.31). No estudo realizado não se verificaram diferenças significativas entre os diferentes cafés torrados porque os cafés robusta, que com a torra poderiam formar mais sólidos solúveis, foram submetidos a uma torra mais clara do que os arábica.

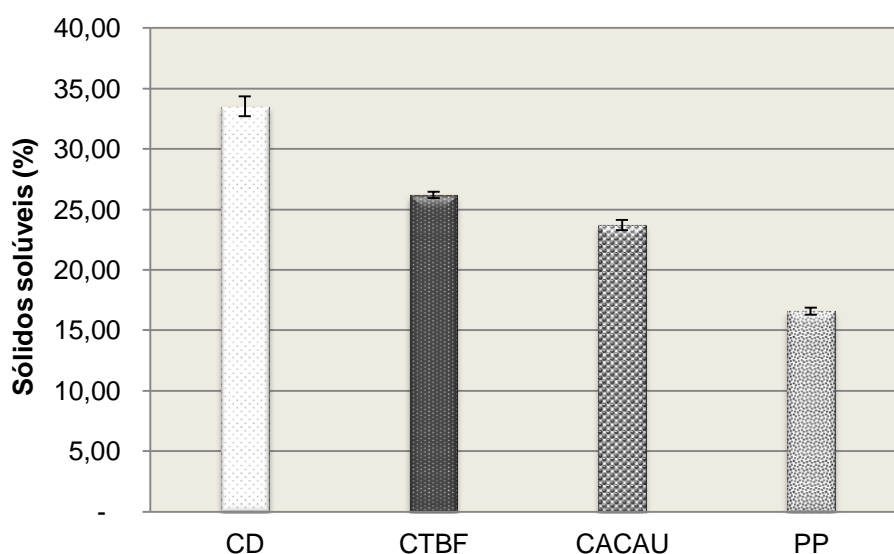
O teor de sólidos solúveis diminui com a torra, como consequência da destruição de ácidos orgânicos e da volatilização de alguns compostos. Em torras escuras, dada a fragilidade dos grãos que origina, a resolubilização de celuloses, glícidos e a desnaturação de proteínas, verifica-se um maior teor de sólidos solúveis [260].

Tabela 4.31 - Níveis de sólidos solúveis nas amostras de café torrado das diferentes espécies e origens.

	Sólidos solúveis (%)
RAT	23,30 ± 0,71 ^a
RCT	25,00 ± 2,55 ^a
ATT	24,90 ± 0,14 ^a
ABT	23,70 ± 0,14 ^a
AHT	23,60 ± 0,28 ^a

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=2). A letra (a) indica ausência de diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café torrado. Abreviaturas: RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras.

A amostra correspondente ao café dourado apresentou um teor de sólidos solúveis de $33,51 \pm 0,81$ % (Figura 4.20). Este resultado encontra-se no intervalo referido por Esteves e Oliveira [208], para o café robusta verde de Angola (32,46 - 34,91 %). O cacau e a pele de prata apresentaram teores de sólidos solúveis inferiores aos cafés.

**Figura 4.20** - Percentagem de sólidos solúveis nas matérias-primas que constituem o BF. Abreviaturas: CD – café dourado; CTBF – café torrado utilizado na formulação do *blend* final (BF) constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica e PP – pele de prata.

A extração de sólidos solúveis para a bebida é condicionada pela uniformidade do produto, obtida na moagem e que está associada à fragilidade dos grãos torrados, assim como pela granulometria das partículas.

Apesar de todas as moagens estudadas (cafés do mercado, controlos, e BF) apresentarem uma classificação de “moagem máquina”, ou seja moagem fina, as dimensões das partículas são

diferenciadas e interferem na extração dos sólidos solúveis pela capacidade de extração dos equipamentos e pela área de contacto entre as partículas e o solvente (água). Tal como os sólidos solúveis detetados nas amostras de café torrado sólido, também os sólidos totais compostos por sólidos solúveis e insolúveis (provenientes das micropartículas provenientes do cacau, pele de prata e café dourado) da bebida são correlacionáveis com a dimensão das partículas. O controlo QAL apresentou um teor de sólidos solúveis significativamente superior ao *blend* final BF e controlo DCH (Tabela 4.32).

Tabela 4.32 - Teor de sólidos solúveis no BF e nos controlos DCH e QAL.

	Sólidos solúveis (%)
DCH	26,40 ± 0,57 ^b
QAL	28,10 ± 0,42 ^a
BF	26,23 ± 0,24 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=2). As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café torrado. Abreviaturas: DCH - Café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*; QAL - Café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*; BF - *Blend* final de café com características potencialmente funcionais.

A bebida do controlo DCH apresentou uma granulometria superior à do BF e ao controlo QAL e, por sua vez, um teor de sólidos totais de 42,73 mg/mL, valor significativamente diferente das extrações do BF pelas diferentes máquinas e do controlo QAL (Figura 4.21).

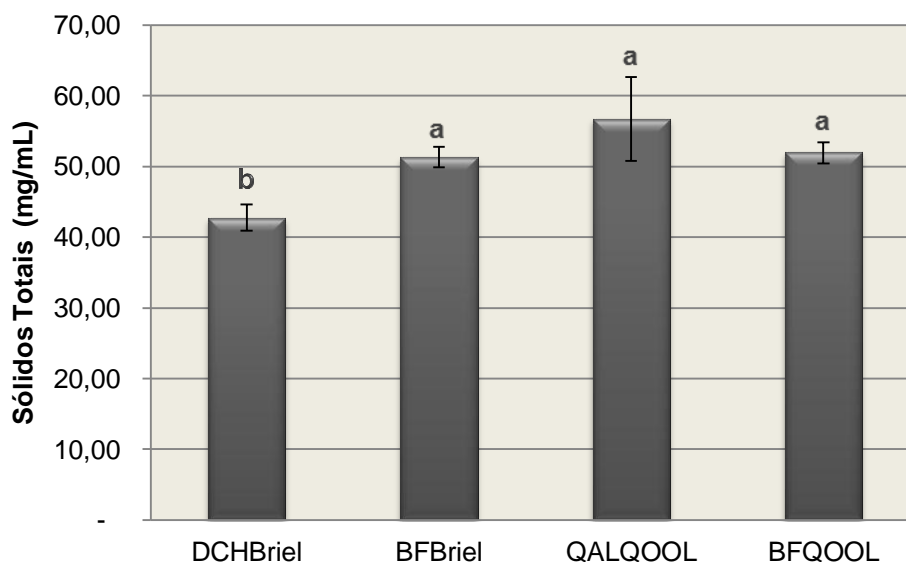


Figura 4.21 - Teor de sólidos solúveis (nas bebidas de café expresso correspondentes ao *blend* final BF e respetivos controlos (QAL e DCH) após extração nas máquinas *Briel* e *DQOOL*. As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras.

O teor de sólidos solúveis do controlo QAL vai de encontro aos resultados obtidos para bebidas de café expresso (52,5 a 58,2 mg/mL) por Illy [261] e os sólidos totais (52,10 a 61,20 mg/mL) determinados por Albanese *et al.* [98]. A extração pela máquina *DQOOL* apresenta um teor de sólidos totais superior à obtida pela máquina *Briel*. No entanto a amostra correspondente ao *blend* final BF

não apresenta diferenças significativas para as diferentes extrações nem quando comparado com a extração com o controlo QAL. Os valores obtidos neste parâmetro decorrem da complexidade da respetiva matriz, constituída por fibra insolúvel proveniente da pele de prata, pelas partículas de cacau e café dourado que interferem na extração. Na extração pela máquina *Briel* algumas micropartículas insolúveis são extraídas para a bebida devido à sua dimensão e capacidade de passagem pelo filtro *Cremaker*®TM enquanto na máquina *DQOOL* elas ficam retidas no filtro da cápsula.

Nas máquinas de café expresso utilizadas (domésticas), a temperatura de percolação é inferior à das máquinas profissionais da hotelaria e restauração. Estas últimas caracterizam-se por uma pressão e temperatura superiores e, por conseguinte, por uma extração mais eficaz dos sólidos totais para o café expresso. Atente-se que a temperatura de percolação está diretamente relacionada com o processo de extração [98].

4.5.4. Caracterização da granulometria das amostras de café torrado moído adquiridas no mercado e do *blend* final

A granulometria das amostras de café torrado e moído, disponíveis no mercado, diferem consoante as marcas e aplicações a que se destinam. A moagem de saco é mais grossa e indicada para cafeteiras de filtro e prensa francesa. As amostras estudadas (tabela 4.33) pertencem ao segmento da “moagem máquina”, correspondente à moagem fina indicada para máquinas de café expresso.

Tabela 4.33 - Caracterização da granulometria das amostras de café do mercado (TSS, AS e NV) BF e controlos DCH e QAL com base na percentagem de massa retida.

Amostras de café comercial	Massa retida (%)		
	0,5-1mm	0,25 – 0,5 mm	Fundo (≤ 0,25 mm)
TSS	2,92	67,66	29,42
AS	0,70	9,66	89,36
NV	9,16	49,67	41,16
DCH	9,36	48,8	41,84
QAL	0,30	15,12	84,58
BF	1,60	51,65	46,75

Abreviaturas: TSS - Café com pele de prata, acondicionado sob a forma de pastilhas; AS - Café rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina; NV - Café com vitaminas; DCH - Café controlo, torrado e moído, para extração nas máquinas de café *Briel* (máquina doméstica fabricada em Portugal) e *La Cimbali* (máquina profissional da restauração fabricada em Itália); QAL - Cápsula controlo de café torrado e torrefacto, para extração em máquina *DQOOL* (máquina doméstica de cápsulas fabricada na China para a empresa Novadelta) e BF – *Blend* final de café com características potencialmente funcionais.

As amostras que apresentaram uma moagem mais fina foram a AS correspondente ao café rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina e o controlo QAL constituído por café torrado e torrefacto, para extração em máquina *DQOOL*. Esta determinação é de extrema relevância pois permite compreender os resultados obtidos em determinadas análises físico-químicas, como a determinação do teor de sólidos solúveis, sólidos totais nas bebidas que são correlacionáveis com a

dimensão das partículas, pois quanto menores, maior a área de contacto com os solventes, o que por sua vez implica uma extração superior de compostos bioativos e por conseguinte um teor superior.

4.5.5. Teor de humidade das matérias-primas, *blend* final BF e controlos

As matérias-primas que constituem o *blend* apresentam um teor de humidade superior ao café torrado (Tabela 4.34). No entanto, atendendo ao processamento a que foram submetidas, e às percentagens em causa, este teor de humidade não origina perecibilidade do produto final.

Tabela 4.34 - Teor de humidade nas diferentes matérias-primas que constituem o BF.

	Humidade (%)
Café dourado	6,84 ± 0,11
Pele de prata	8,94 ± 0,13
CTBF	3,19 ± 0,07
Cacau	5,40 ± 0,03

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=2). Abreviatura: CTBF – café torrado utilizado na formulação do *blend* final (BF) constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica.

Os controlos e o *blend* final BF apresentam-se em conformidade com o limite máximo admissível para café torrado moído (6 %) para a perda de massa por secagem (tabela 4.35), conforme especificado no Decreto-lei nº 53/89 de 22 de Fevereiro [262].

Tabela 4.35 - Teor de humidade nos controlos QAL e DCH e no *blend* final BF.

	Perda de massa por secagem (%)
QAL	4,40 ± 0,11 ^a
DCH	2,66 ± 0,03 ^b
BF	2,71 ± 0,05 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=2). As diferentes letras (a, b,) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café.

4.5.6. Fibra insolúvel

A pele de prata apresenta na sua constituição uma maior quantidade de fibra dietética total (62,2 %) face a outros cereais e farelos [164]. Contudo, a fibra dietética solúvel da pele de prata representa 14 % da fibra dietética total e é comparável com a de farelo de aveia. A quantidade substancial de fibra dietética solúvel é consideravelmente interessante na formulação de produtos ricos em fibra, quando comparada com ingredientes como o farelo de trigo com 1,7 % ou com a farinha de trigo integral com 0,5 % [164]. A pele de prata apresentou um teor de fibra insolúvel de 46,12 % (tabela 4.38), teor semelhante ao verificado para a pele de prata do café dos Camarões (48,50 %) [263]. Note-se contudo que em pele de prata de cafés provenientes de diferentes espécies, origens e processamentos foram verificados teores inferiores aos determinados para a celulose bruta (27,42 %) [165], e superiores (53,7, 64,0 e 48,5 - 64,2 %) [164, 166, 263] para fibra dietética insolúvel.

Tabela 4.36 - Teor de fibra insolúvel determinado nas matérias-primas que constituem o *blend* final BF.

	Fibra dietética insolúvel (%)
Café dourado	46,80 ± 0,81
Pele de prata	46,12 ± 0,00
CTBF	51,65 ± 1,75
Cacau	46,30 ± 0,30

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=2). Abreviatura: CTBF – café torrado utilizado na formulação do *blend* final (BF) constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica.

Os teores em fibra dietética insolúvel do cacau em pó comum oscilam em torno de 22,8 %, variando a fibra dietética total entre 23,4 e 24,9 % [264].

O cacau em pó, proveniente da Costa do Marfim apresentou um teor de fibra dietética insolúvel superior aos produtos similares disponíveis no mercado, 46,30 % (tabela 4.36), superior ao cacau do Equador (26,9 %) [265], no entanto inferior ao cacau enriquecido com fibra, cujo teor de fibra dietética total é de 60,54 %, e o teor de fibra dietética insolúvel apresenta-se na ordem dos 50,45 % [266].

Os grãos de café verde são compostos principalmente por polissacarídeos insolúveis, como celulose e hemicelulose (50 % m/m) [24]. A fibra insolúvel do café verde é composta por holocelulose (18 %), hemicelulose (15 %) e lenhina (2 %) [56, 267], contudo no café torrado prevalece a hemicelulose e holocelulose. Os teores de componentes estruturais insolúveis (celulose, polissacáridos ligados a outros componentes da parede celular e β 1-4 mananas) poderão variar entre 34 e 54 % para o café verde. As hemiceluloses, em conjugação com a celulose, formam a holocelulose, que representam os principais polissacarídeos dos grãos de café, permanecendo em associação com a lenhina. O café verde comercial apresenta um teor de holocelulose que pode variar, segundo Clarke e Macrae [30], entre 50 e 55 %, no entanto a torra condiciona o teor de holocelulose nos grãos torrados, pois torras intensas poderão reduzir em 50 % o teor de holocelulose. A lenhina também é uma fibra insolúvel que pode representar, juntamente com outras fibras insolúveis, uma média de 34 % de fibra insolúvel nos cafés torrados. O café dourado apresentou um teor de fibra insolúvel ligeiramente inferior ao obtido para outros cafés verdes, possivelmente devido à extensa área de contacto que foi exposta ao calor (tratamento por secagem), o que propiciou uma quebra das ligações.

A tabela 4.37 apresenta o teor de fibra insolúvel no café torrado moído correspondente ao BF e controlo DCH.

Tabela 4.37 - Teor de fibra insolúvel determinado no BF e controlos (DCH e QAL).

Amostra	Fibra dietética insolúvel (%)
BF	47,90 ± 0,87 ^a
DCH	44,59 ± 0,87 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=2). As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café. Abreviaturas: DCH - Café controlo, torrado e moído, para extração nas máquinas de café *Briel* (máquina doméstica fabricada em Portugal) e *La Cimbali* (máquina profissional da restauração fabricada em Itália) e BF - *Blend* final de café com características potencialmente funcionais.

O BF apresentou um teor de fibra insolúvel significativamente superior ao controlo DCH.

Nas bebidas, o BF apresentou um teor de fibra dietética insolúvel superior ao controlo DCH (figura 4.22).

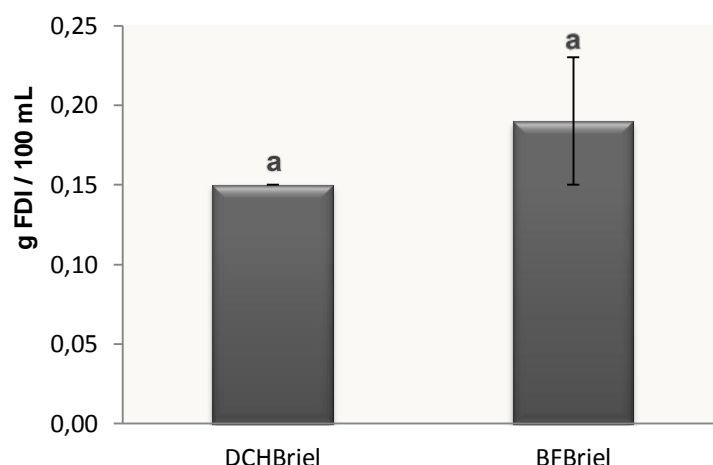


Figura 4.22 - Teor de fibra dietética insolúvel determinado nas bebidas de café expresso correspondentes ao blend final BF (BFBriel) e controlo DCH (DCHBriel). Os valores são expressos em gramas de fibra dietética insolúvel (FDI)/ 100mL de bebida de café expresso (n=3). A letra (a) indica ausência de diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café.

A fibra insolúvel detetada no *blend* final BF evidencia um maior teor de fibra insolúvel no café torrado moído em pó, no entanto a bebida correspondente ao BF não apresenta diferenças estatisticamente significativas. O teor de fibra insolúvel das amostras em pó (pele de prata, cacau, café dourado e café torrado) evidenciam o seu alto teor de fibra insolúvel e por sua vez apresentam propriedades de hidratação (inchamento e retenção de água) o que favorecem o controlo das glicemias, prevenção de obstipações e ainda potencial de formulação de produtos com baixo valor calórico.

4.5.7. Matéria gorda total e ácidos gordos

No género *Coffea*, a *C. canephora* usualmente apresenta um menor teor de matéria gorda total (valor que oscila em torno de 8,5 %) [73, 268]. Esta característica é vantajosa para a produção do café dourado pois previne a oxidação e rancificação que podem advir do óleo, cera e matéria insaponificável, quando os grãos são reduzidos a micropartículas após secagem. De referir também que a rancificação que ocorre em lípidos que contêm ácidos gordos insaturados, a rancidez oxidativa é um fator crítico que afeta a qualidade do café processado. O teor de matéria gorda total extraído do café dourado, e que corresponde ao café robusta de Angola, apresentou valores superiores aos indicados por outros autores [208], que apontam teores oscilando entre 6,83 e 8,30 %. Note-se contudo que estudos mais recentes apresentam resultados que variam entre 9,64 e 12,27 % [259].

O café torrado utilizado na formulação do *blend* final CTBF apresenta 30 % de café arábica e 70 % de robusta na sua composição o que faz aumentar o respetivo teor de matéria gorda total em relação aos cafés 100 % robustas torrados, que apresentam um teor de 11 % comparativamente aos 17,0 % dos arábicas torrados [22]. O CTBF apresenta um teor em matéria gorda total correspondente a 11,81 % (tabela 4.38.). De acordo com a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) [269], o teor total de diterpenos corresponde a 1,3 % no café verde arábica e 0,2 % no robusta. O diterpeno cafestol tem sido associado à atividade hipercolesterolémica [270] e considerado o composto conhecido, mais influente no aumento do colesterol na dieta humana [271, 272]. Este facto fundamenta a opção por um maior teor de café robusta (70%) em detrimento do arábica (30%) para a formulação do *blend* final BF. Esta seleção pretendeu reduzir assim o teor de diterpenos no *blend* final. No entanto num estudo recente efetuado por van Cruchten *et al.* [273] verificou-se que o diterpeno cafestol parece induzir a degradação de substâncias tóxicas e cancerígenas e proteger contra a aflatoxina B. Desta forma este composto quando em quantidades reduzidas proporciona um equilíbrio entre os efeitos anticancerígenos (quimiopreventivos) e os hipercolesterolémicos.

A matéria gorda total extraída do cacau em pó ($15,05 \pm 0,02$ %) foi superior (tabela 4.40) aos resultados apontados por outros autores, cujos valores variaram entre 9,04 - 10,7 % [274], 13,51 % [275] e 10 a 12 % [276].

A pele de prata apresenta um teor em matéria gorda total que oscila em torno de 1,88 %, (tabela 4.38), sendo portanto inferior a outros valores (2,27 %) indicados por outros autores [164, 165]. A pele de prata analisada, ao ser expelida do grão durante a torra, absorve parcialmente alguma matéria gorda total. No entanto, esta poderá variar consoante a industrialização, sendo influenciada diretamente pela quantidade de matéria gorda total do grão (consoante a espécie) e grau de torra (destacando-se o fator temperatura em detrimento do tempo de exposição).

Em relação ao *blend* final BF, o teor em matéria gorda total não é muito superior uma vez que apesar da adição de 3 % de cacau com 15% de gordura, é compensada com o baixo teor (1,9%) dos 2% de pele de prata que constituem o produto.

Tabela 4.38 - Percentagem de matéria gorda total e teor de ácidos gordos totais das matérias-primas (café dourado, pele de prata, CTBF e cacau) que constituem o *blend* final BF e respetivos controlos DCH e QAL.

	Matéria gorda total (%)	Ácidos gordos totais (mg/g matéria seca)
Café dourado	10,08 ± 0,10 ^b	69,77 ± 1,69 ^c
CTBF	11,81 ± 0,05 ^a	116,7 ± 3,00 ^a
BF	10,19 ± 0,70 ^b	90,45 ± 16,13 ^b
QAL	11,53 ± 0,11 ^a	62,10 ± 14,56 ^c
DCH	10,70 ± 0,69 ^c	68,60 ± 4,08 ^c
Pele de prata	1,88 ± 0,20	3,36 ± 0,24
Cacau	15,05 ± 0,02	132,4 ± 6,64

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão, matéria gorda total (n=2); ácidos gordos totais (n=6). As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. Abreviaturas: CTBF - café torrado utilizado na formulação do *blend* final (BF) constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica; BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais; QAL - Café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina DQOOL; DCH - Café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*.

Os resultados obtidos permitiram verificar diferentes teores de matéria gorda total para as diferentes extrações realizadas pelas máquinas de café expresso domésticas *Briel* e DQOOL (tabela 4.39). Como era esperado, a máquina de café expresso com porta filtros *Briel*, similar às profissionais da restauração, obteve um maior teor de matéria gorda total. A extração na máquina de cápsulas DQOOL não apresentou um teor tão elevado, porque as cápsulas possuem um filtro que retém uma percentagem significativa da matéria gorda total. No entanto, a matéria gorda verificada em cada bebida varia com o resíduo liofilizado de cada extração correspondente ao teor de sólidos extraídos. Assim, a bebida que apresentou um teor de matéria gorda total superior foi, tal como era esperado, a amostra BFBriel (27,04 mg/café expresso), que corresponde ao café expresso equiparável ao obtido por máquinas profissionais da restauração, cujo *blend* era constituído por micropartículas de café dourado e cacau, que apresentavam um teor de matéria gorda total significativo e uma extração facilitada das partículas. A extração a partir de cápsulas efetuada pela máquina DQOOL apresentou um teor mais elevado de matéria gorda total para o controlo QAL do que para o BF: 25,23 mg/café expresso e 22,39 mg/café expresso, respetivamente. Relativamente ao BF, o controlo QAL apresenta uma granulometria relativamente mais reduzida, o teor de café arábica é superior, a sua composição inclui café torrefacto e a torra é relativamente mais escura. Estes fatores influenciam a extração da matéria gorda total para a bebida. De notar que o café sólido também apresentava um maior teor de matéria gorda total.

Tabela 4.39 - Teor de matéria gorda total e teor de ácidos gordos totais do extrato liofilizado correspondente às bebidas extraídas pela máquina de café expresso *Briel* e pela máquina *DQOOL* (cápsulas) a partir do *blend* final BF e controlos DCH e QAL.

Bebidas	matéria gorda total (%)	ácidos gordos totais (mg/g matéria seca)
BFBriel	2,19	9,27 ± 0,87 ^b
DCHBriel	2,20	6,79 ± 0,19 ^c
BFQOOL	1,58	8,42 ± 0,59 ^b
QALQOOL	1,79	14,68 ± 0,54 ^a

Os resultados apresentados para os ácidos gordos totais correspondem à média ± desvio padrão (n=6). As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café.

A matéria gorda total que constitui as bebidas apresenta as seguintes percentagens de ácidos gordos totais: *BFBriel* por 42,33 %, a *DCHBriel* por 30,86 %, a *BFQOOL* por 53,29 % e a *QALQOOL* por 82,01 %. Em relação aos ácidos gordos totais (tabela 4.39), verifica-se que o controlo *QALQOOL* apresenta um maior teor e o *BFBriel* apresenta valores superiores ao controlo *DCHBriel*. De referir que estes resultados, quando comparados com a matéria gorda total, sugerem que a matéria insaponificável é mais abundante nas bebidas extraídas pela máquina *Briel* do que pela máquina *DQOOL*, em detrimento da percentagem de ácidos gordos totais extraídos para a bebida.

Ácidos Gordos

A determinação do perfil de ácidos gordos foi realizada no *blend* final BF, respetivas matérias-primas (café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70% café robusta e 30% café arábica CTBF, café dourado, cacau e pele de prata), nos controlos DCH e QAL, e nas bebidas correspondentes ao *blend* final BF e controlos DCH e QAL extraídas pelas máquinas *DQOOL* e *Briel*. Os ácidos gordos foram comparados pelas suas percentagens relativas e revelam diferenças qualitativas relativamente aos ácidos gordos totais. As percentagens dos ácidos gordos permitiram calcular um índice de insaturação. Foram identificados 17 ácidos gordos nas amostras estudadas (figura 4.23; tabela 4.40).

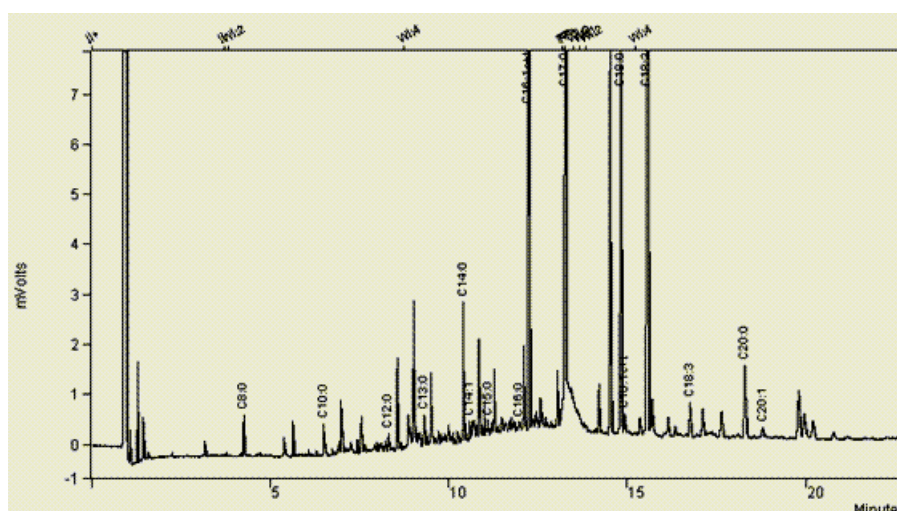


Figura 4.23 - Cromatograma dos ácidos gordos que integram o *blend* final BF.

Os ácidos gordos mais abundantes na amostra café dourado foram: linoleico (40,81 %), palmítico (33,46 %), oleico (12,33 %), esteárico (7,13 %) e araquídico (2,70 %). Estes resultados estão em concordância com os verificados para cafés robusta verdes por outros autores [277]. A espécie selecionada (*Coffea canephora*) apresenta um baixo teor de matéria insaponificável - cerca de 4,23 % [73] e um baixo teor de álcoois diterpénicos (cafestol e kahweol), que se encontram na forma livre ou em monoésteres de ácidos gordos [73]. Na pele de prata predominam os ácidos palmítico, linoleico, araquídico e eicosadienóico. A pele de prata apresenta ainda 53,90 % de ácidos gordos saturados e um índice de insaturação de 1,53 % (tabela 4.40).

Tabela 4.40 - Composição do teor de ácidos gordos do óleo das matérias-primas que constituem o *blend final* BF.

Ácidos gordos (%)	CTBF	Café dourado	Cacau	Pele de prata
Caprílico (C8:0)	0,01±0,00	0,17±0,04	0,03±0,00	0,86±0,15
Cáprico (C10:0)	0,01±0,00	0,10±0,02	0,02±0,00	0,72±0,18
Láurico (C12:0)	0,01±0,00	0,13±0,04	0,03±0,00	0,93±0,13
Tridecanóico (C13:0)	0,01±0,00	0,07±0,02	0,01±0,00	0,98±0,34
Mirístico (C14:0)	0,07±0,00	0,07±0,01	0,08±0,01	2,09±0,28
Pentadecanóico (C15:0)	0,04±0,00	0,06±0,01	0,02±0,00	0,86±0,14
Palmítico (C16:0)	32,15±1,98	33,46±1,57	24,01±0,67	23,04±1,76
Esteárico (C18:0)	8,41±0,46	7,13±0,17	39,82±0,37	7,46±0,50
Araquídico C20:0	3,49±0,19	2,70±0,24	1,42±0,05	16,96±0,95
Beénico (C22:0)	0,44±0,02	0,97±0,11	0,30±0,02	0,00±0,00
Σ Saturados	44,64	44,86	65,74	53,90
Mirísticoleico (C14:1)	0,01±0,00	0,13±0,02	0,03±0,00	1,98±0,28
Palmitoleico (C16:1)	0,04±0,00	0,09±0,01	0,16±0,01	0,00±0,00
Oleico (C18:1)	11,05±0,78	12,33±0,30	31,27±0,41	9,71±0,81
Eicosenoico (C20:1)	0,46±0,03	0,44±0,02	0,06±0,00	0,00±0,00
Σ Monoinsaturados	11,56	12,99	31,52	11,69
Linoleico (C18:2)	42,83±2,00	40,81±1,64	2,39±0,11	18,54±0,92
Linolénico (C18:3)	0,90±0,05	0,88±0,06	0,11±0,01	1,59±0,17
Eicosadienóico (C20:2)	0,10±0,01	0,45±0,11	0,25±0,02	14,28±1,07
Σ Polinsaturados	43,83	42,14	2,75	34,41
TOTAL	100	100	100	100
Índice de insaturação	2,25±0,17^a	2,19±0,13^a	0,56±0,01^c	1,53±0,13^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=6). As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café no que corresponde ao grau de insaturação. Abreviatura: CTBF - Café torrado utilizado na formulação do *blend final* BF, constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica.

O cacau apresenta um teor de ácidos gordos saturados (65,74 %) e um índice de insaturação de 0,56 %. Os ácidos mais abundantes são o esteárico (39,82 %), o oleico (31,27 %) e o palmítico (24,01 %).

(tabela 4.40). O ácido esteárico, apesar de ser um ácido gordo saturado apresenta um efeito neutro nos níveis de colesterol sanguíneo. O ácido oleico relaciona-se com a diminuição da razão LDL:HDL o que poderá estar relacionado com um incremento dos níveis de colesterol HDL, bem como a diminuição da peroxidação lipídica. A substituição dos ácidos gordos das LDL pelos ácidos gordos do cacau parece aumentar a resistência à oxidação e, por sua vez, torná-los menos sensíveis a danos oxidativos [278]. O cacau, apesar de rico em gorduras saturadas, não aumenta os teores de colesterol LDL [279]. Na tabela 4.41 apresentam-se os resultados obtidos correspondentes ao perfil de ácidos gordos para o *blend* final BF e respetivos controlos DCH e QAL.

Tabela 4.41 - Composição dos ácidos gordos das amostras de café torrado moído correspondentes ao *blend* final BF e respetivos controlos (DCH e QAL).

Ácidos gordos (%)	BF	DCH	QAL
Caprílico (C8:0)	0,09±0,04 ^b	0,11±0,02 ^a	0,05±0,02 ^b
Cáprico (C10:0)	0,06±0,03 ^a	0,08±0,01 ^a	0,06±0,02 ^a
Láurico (C12:0)	0,08±0,04 ^a	0,06±0,01 ^a	0,06±0,02 ^a
Tridecanóico (C13:0)	0,06±0,02 ^a	0,05±0,00 ^a	0,07±0,03 ^a
Mirístico (C14:0)	0,07±0,03 ^a	0,10±0,02 ^a	0,08±0,03 ^a
Pentadecanóico (C15:0)	0,04±0,01 ^b	0,05±0,02 ^a	0,07±0,02 ^a
Palmítico (C16:0)	33,28±1,67 ^b	36,37±0,70 ^a	33,78±2,03 ^b
Esteárico (C18:0)	8,18±0,48 ^b	6,97±0,35 ^c	9,86±1,18 ^a
Araquídico C20:0	2,81±0,22 ^b	2,65±0,16 ^b	4,92±0,33 ^a
Beénico (C22:0)	0,00±0,00	0,19±0,02 ^b	1,28±0,28 ^a
Σ Saturados	44,67	46,63	50,23
Mirísticoleico (C14:1)	0,05±0,01 ^b	0,09±0,01 ^a	0,11±0,04 ^a
Palmitoleico (C16:1)	0,05±0,02 ^b	0,04±0,01 ^b	0,14±0,03 ^a
Oleico (C18:1)	10,60±0,56 ^a	9,39±0,30 ^b	10,07±0,70 ^a
Eicosenóico (C20:1)	0,32±0,01 ^b	0,33±0,02 ^b	0,50±0,04 ^a
Σ Monoinsaturados	11,02	9,85	10,82
Linoleico (C18:2)	42,64±1,78 ^a	42,15±0,70 ^a	37,67±2,76 ^b
Linolénico (C18:3)	1,02±0,05 ^a	0,94±0,02 ^a	0,78±0,11 ^b
Eicosadienóico (C20:2)	0,66±0,05 ^a	0,42±0,10 ^b	0,52±0,21 ^a
Σ Polinsaturados	44,32	43,51	38,97
TOTAL	100	100	100
Índice de insaturação	2,26 ^a	2,10 ^a	1,79 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=6). As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. Abreviaturas: BF - *Blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - Café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*; QAL - Café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*.

Em relação às bebidas (tabela 4.42), verificou-se que a correspondente ao controlo DCH apresenta um maior teor de ácidos gordos totais saturados (58,13 %) e, por sua vez, o controlo QAL o menor (48,82 %). O BF apresenta o maior teor de ácidos monoinsaturados (11,99 %). Este resultado decorrerá do cacau que tem uma elevada percentagem de ácido oleico. O controlo QAL apresenta um maior teor de ácidos gordos totais polinsaturados (40,88 %) e um grau de insaturação de 1,90 % contra 1,25 % do controlo DCH que apresenta o menor grau de insaturação. O *blend* final BF apresenta um grau de insaturação de 1,75. Em relação à percentagem individual de cada ácido gordo, observam-se diferenças significativas entre a extração nas diferentes máquinas (*Briel* e *DQOOL*) da bebida de café expresso correspondente ao BF. No entanto, essa diferença não se evidencia quando são agrupados em saturados, monoinsaturados e polinsaturados. Uma das razões possíveis para a diferença na extração individual de cada ácido gordo poderá estar associada à permeabilidade seletiva da barreira de celulose do filtro que está impregnado na cápsula Delta Q.

Tabela 4.42 - Composição dos ácidos gordos das bebidas de café correspondentes ao *blend* final BF e respetivos controlos (DCH e QAL) extraídos pelas diferentes máquinas *Briel* e *DQOOL*.

Ácidos gordos (%)	Máquina <i>Briel</i>		Máquina <i>DQOOL</i>	
	<i>BFBriel</i>	<i>DCHBriel</i>	<i>BFQOOL</i>	<i>QALQOOL</i>
Caprílico (C8:0)	0,64±0,13 ^b	1,91±0,26 ^a	0,67±0,47 ^b	0,60±0,02 ^b
Cáprico (C10:0)	0,83±0,08 ^b	1,82±0,25 ^a	0,50±0,25 ^b	0,59±0,08 ^b
Láurico (C12:0)	1,58±0,20 ^b	5,54±0,29 ^a	0,67±0,20 ^c	1,15±0,13 ^b
Tridecanóico (C13:0)	1,07±0,18 ^b	4,27±0,36 ^a	0,47±0,28 ^b	0,73±0,13 ^b
Mirístico (C14:0)	1,86±0,21 ^b	9,27±0,69 ^a	0,59±0,20 ^c	1,17±0,24 ^b
Pentadecanóico (C15:0)	1,11±0,15 ^b	6,10±0,54 ^a	0,56±0,13 ^b	0,69±0,10 ^b
Palmítico (C16:0)	32,00±1,14 ^a	20,15±0,79 ^b	35,96±5,76 ^a	31,66±0,49 ^a
Estearico (C18:0)	8,86±0,32 ^a	7,54±1,00 ^a	8,86±0,80 ^a	9,09±0,80 ^a
Araquídico C20:0	2,54±0,20 ^a	1,53±0,03 ^b	2,38±0,25 ^a	2,55±0,16 ^a
Beénico (C22:0)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,59±0,26 ^a
Σ Saturados	50,49	58,13	50,66	48,82
Mirísticoleico (C14:1)	1,40±0,26 ^a	0,55±0,18 ^b	0,93±0,21 ^a	0,10±0,09 ^b
Palmitoleico (C16:1)	0,00±0,00 ^a	3,36±0,38 ^a	0,00±0,00	0,21±0,05 ^b
Oleico (C18:1)	10,23±0,69 ^a	7,90±0,76 ^a	10,73±0,83 ^a	9,57±0,95 ^a
Eicosenóico (C20:1)	0,36±0,04 ^a	0,00±0,00 ^a	0,25±0,05 ^a	0,40±0,02 ^a
Σ Monoinsaturados	11,99	11,81	11,91	10,28
Linoleico (C18:2)	35,35±0,85 ^a	18,64±0,69 ^b	36,02±3,10 ^a	37,92±0,95 ^a
Linolénico (C18:3)	0,99±0,07 ^a	0,82±0,13 ^a	0,96±0,11 ^a	0,89±0,15 ^a
Eicosadienóico (C20:2)	1,19±0,18 ^b	10,62±0,39 ^a	0,45±0,09 ^b	2,07±1,95 ^b
Σ Polinsaturados	37,53	30,08	37,43	40,88
TOTAL	100	100	100	100
Índice de insaturação	1,75±0,05 ^a	1,25±0,04 ^b	1,75±0,26 ^a	1,90±0,05 ^a

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=6). As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café.

O teor de ácidos gordos insaturados presentes no café é suscetível a rancificação quando o mesmo não é devidamente embalado, ou quando é submetido a condições adversas. O *blend* final BF foi embalado na linha de produção para preservar as suas características químicas e sensoriais, evitando assim a peroxidação do ácido linoleico e as consequentes alterações no sabor e odor.

4.5.8. Teor de polifenóis totais e capacidade antioxidante

Os polifenóis totais presentes no café possuem uma correlação elevada com a capacidade antioxidante [138, 280]. A relação entre o teor de polifenóis totais e a capacidade antioxidante já tem sido evidenciada noutras matrizes [281]. Neste contexto, as condições de torra média parecem ser as que mais potenciam a composição de antioxidantes no produto final [263].

Cafés torrados

O café vem sendo referenciado como uma fonte de compostos bioativos benéficos, especialmente polifenóis e cafeína [140]. Os cafés robusta submetidos a torra média-clara das origens Angola e Camarões, RAT e RCT, respetivamente, apresentaram um teor de polifenóis superior aos cafés arábica de torra média ABT, ATT e AHT (figura 4.24).

Dos cafés arábica, o que apresentou um teor superior de polifenóis totais foi o correspondente à de Timor (ATT) com 43,67 mg GAE/g, superior aos cafés do continente americano (ABT e AHT), possivelmente devido à provável presença de grãos do híbrido de Timor. Os resultados verificados são concordantes com um estudo realizado por Hečimović *et al.* [140], cujos teores de polifenóis totais do café robusta (*Coffea canephora* variedade *Cherry*), torra média, foram de 42,37 mg GAE/g e o café arábica (*Coffea arabica* variedade *Minas*), torra clara, com 39,75 mg GAE/g.

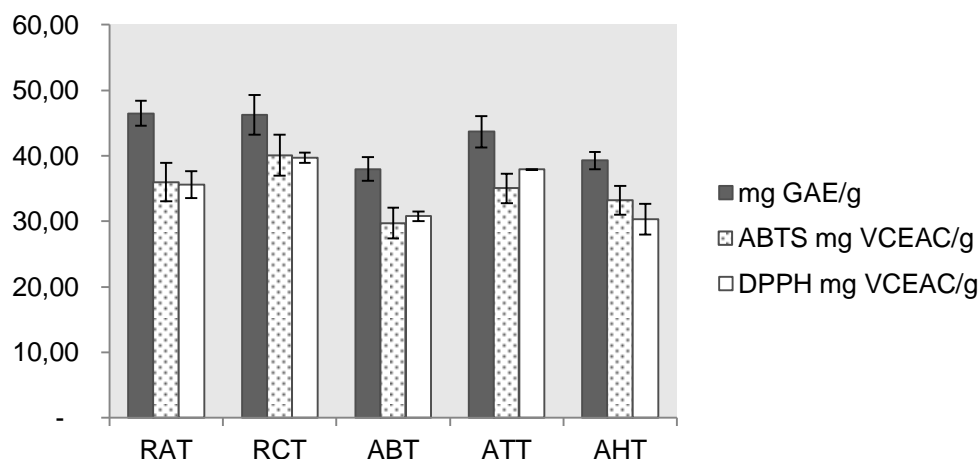


Figura 4.24 - Teor de polifenóis totais determinados pelo método de *Folin Ciocalteu* expressos em mg GAE/g, capacidade antioxidante expressa em mg VCEAC/g determinada pelos métodos ABTS e DPPH. Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras e ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor; GAE - equivalentes de ácido gálico; VCEAC - capacidade antioxidante equivalente em vitamina C.

Os resultados obtidos no estudo realizado aos cafés das diferentes espécies e origens que constituem o *blend* de café torrado, CTBF constituído por 70% café robusta e 30% café arábica, estão

de acordo com estudos anteriores, nos quais foi constatado que a capacidade antioxidante do café torrado excede a do café verde, e que a torra ideal do ponto de vista da atividade antioxidante é a torra média, em detrimento da escura, pois subsiste um equilíbrio entre a degradação de compostos fenólicos e a formação dos produtos da reação de *Maillard* [47, 239, 256-258]. Note-se ainda que torras agressivas influenciam negativamente a atividade antioxidante e o teor de polifenóis [257].

O café robusta apresenta uma maior capacidade antioxidante comparativamente ao café arábica. O café torrado utilizado na formulação do *blend* final, constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica CTBF apresenta uma capacidade antioxidante superior ao café arábica pelo método ABTS e uma capacidade antioxidante equivalente ao ATT, correspondente ao café arábica de Timor, que se diferencia dos restantes cafés arábica (figura 4.29). No entanto, equacionando os níveis de polifenóis totais e a capacidade antioxidante, o *blend* de café formulado apresenta teores interessantes e equilibrados que o distinguem, devido a um elevado teor de café robusta submetido a uma torra média clara, na sua composição.

Os cafés de torra média evidenciaram, comparativamente ao café dourado, e devido a um aumento na atividade antioxidante na porção não fenólica, um incremento na atividade de remoção dos radicais livres pelos métodos de remoção dos radicais livres DPPH e ABTS. Em torras mais escuras, uma vez que não se verifica um equilíbrio entre a atividade antioxidante dos polifenóis com o aumento da atividade antioxidante das melanoidinas (fração não fenólica) [138] verificou-se uma redução do teor de polifenóis nas amostras submetidas a torras médias escuras (ABT, ATT e AHT) quando comparadas com as submetidas a torras médias claras (RAT e RCT). Os polifenóis contribuem assim substancialmente para a atividade antioxidante do café. Como o café dourado é um produto minimamente processado, os compostos fenólicos não sofreram uma redução significativa, o que faz com que este produto se apresente com o maior teor de polifenóis totais entre as amostras estudadas (tabela 4.43).

Tabela 4.43 - Resultados da capacidade antioxidante avaliada pelos diferentes métodos *Folin Ciocalteu*, ABTS e DPPH, para as diferentes matérias-primas que constituem o *blend* final BF.

Amostras	<i>Folin Ciocalteu</i> (mg GAE/g)	ABTS (mg VCEAC/g)	DPPH (mg VCEAC/g)
CTBF	48,51 ± 3,79	38,11 ± 2,42	37,42 ± 1,08
Café dourado	62,20 ± 3,06	28,94 ± 3,22	27,27 ± 1,30
Pele de prata	3,84 ± 0,10	4,30 ± 0,08	3,43 ± 0,14
Cacau	39,94 ± 0,81	44,50 ± 2,80	40,30 ± 2,87

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=4). Abreviaturas: CTBF - Café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica; GAE - equivalentes de ácido gálico; VCEAC - capacidade antioxidante equivalente em vitamina C.

Pele de prata

O teor de polifenóis totais na pele de prata é muito inferior ao detetável em grãos verdes ou torrados. Devido ao baixo teor de ácidos clorogénicos na pele de prata, os mesmos não foram detetados. Note-

se contudo que o teor de polifenóis, correspondeu a 3,84 mg GAE/g (tabela 4.45). Alguns autores, sugerem a sua presença em teores igualmente baixos [164, 166], 1,1 mg de compostos fenólicos expressos em ácido clorogénico / 100 g de produto, com indicação que os principais fenóis livres nesta matriz são o ácido clorogénico e o ácido cafeico e 1,32 % (m/m) de equivalentes em ácido gálico [166].

A pele de prata é o tegumento mais exposto à temperatura de torra. É a primeira película do grão a ser atingida pelas elevadas temperaturas e a ser expelida dos grãos, podendo assim considerar que parte dos respetivos fenóis sejam degradados, e que as condições de torra influenciem diretamente o teor de polifenóis totais na película. No entanto, neste processo a formação de melanoidinas é favorecida na pele de prata, podendo contribuir assim com 4,5 % de melanoidinas para a atividade antioxidante [164]. A pele de prata assim como o café verde mantém parte dos compostos polifenólicos, principalmente ácidos clorogénicos, que reagem durante a torra com os componentes de polissacarídeos (reação de *Maillard*), formando as melanoidinas, que ainda são capazes de exercer atividade antioxidante [164].

A capacidade antioxidante equivalente em vitamina C (VCEAC) da pele de prata foi de 4,30 e 3,43 mg/g determinadas, respetivamente, pelos métodos ABTS e DPPH (tabela 4.43). Estes valores indicam que a pele de prata apresenta uma atividade antioxidante equivalente à de vegetais frescos. A atividade antioxidante evidenciada pela capacidade de remoção dos radicais livres ABTS e DPPH na pele de prata foi ainda confirmada noutros estudos [164, 166, 263]. A marcada atividade antioxidante deriva dos compostos fenólicos e da presença de melanoidinas que são formadas pela reação de *Maillard* durante a torra. No entanto, a composição de extratos de pele de prata dependem dos solventes de extração, da granulometria das partículas, da espécie e origem dos grãos que vão libertar a pele de prata, bem como do armazenamento e do pré-tratamento [282].

Cacau

O teor de polifenóis é condicionado pelo método, e pelo solvente de extração. Um estudo efetuado num extrato de cacau em pó não alcalinizado, utilizando como solvente de extração metanol 70 % apresentou um teor de polifenóis totais de 58 mg GAE/g [283]. Outro estudo utilizando metanol a 95 % como solvente de extração do cacau em pó detetou apenas 20 mg GAE/g [281]. O estudo realizado utilizou acetona a 70 % e o teor verificado no cacau em pó com origem na Costa do Marfim foi de 39,94 mg GAE/g, inferior ao teor obtido em outro estudo cujo teor variava entre 45,30 e 60,20 mg GAE/g [170]. O valor determinado encontra-se dentro dos parâmetros verificados para outras matérias-primas (tabela 4.43). No entanto, o teor de polifenóis totais, tal como outros compostos bioativos dependem da variedade da fava de cacau, da origem geográfica, do grau de maturação (colheita) e da pós-colheita, bem como da fermentação, secagem, torra, processamento e armazenamento [282]. Os valores obtidos para a capacidade antioxidante equivalente em vitamina C foi de $44,50 \pm 2,80$, pelo método ABTS e 40,30 mg VCEAC/g, pelo método DPPH. Valores semelhantes foram verificados num estudo realizado por Miller *et al.* [170], cuja capacidade antioxidante de três cacaos em pó variaram entre 37,4 e 42,3 mg VCEAC/g realizado pelo método ABTS [170].

Verifica-se que o teor de polifenóis se apresenta igual ou superior em todas as amostras de café torrado, café verde e pele de prata, contudo no cacau a capacidade antioxidante revelou-se superior ao teor de polifenóis totais. O café dourado apresentou um elevado teor de polifenóis totais quando comparado com a sua capacidade antioxidante.

Cafés disponíveis no mercado

Nos cafés que existem no mercado com características “funcionais” verificou-se uma associação entre a atividade antioxidante e o teor de polifenóis totais expressos em equivalentes de ácido gálico (figura 4.25). Foram verificadas diferenças significativas entre o café torrado moído, cujos teores das amostras analisadas variaram entre 39,84 - 50,88 mg GAE / g – valores concordantes com os obtidos por Brezová *et al.* [283] e o café solúvel, cujos valores foram inferiores aos obtidos pelo autor citado anteriormente. Não se encontraram diferenças significativas no teor de polifenóis e na atividade antioxidante das amostras de café torrado analisadas (figura 4.25). No entanto, destacam-se as amostras com maior teor de polifenóis totais e atividade antioxidante: a amostra adquirida no mercado AS, o controlo QAL e a amostra do *blend* final BF (figura 4.25). A amostra de café solúvel 75 % torrado e 25 % verde NG apresenta um teor elevado de antioxidantes devido ao facto de ser um café solúvel, não podendo ser comparada com as outras amostras estudadas.

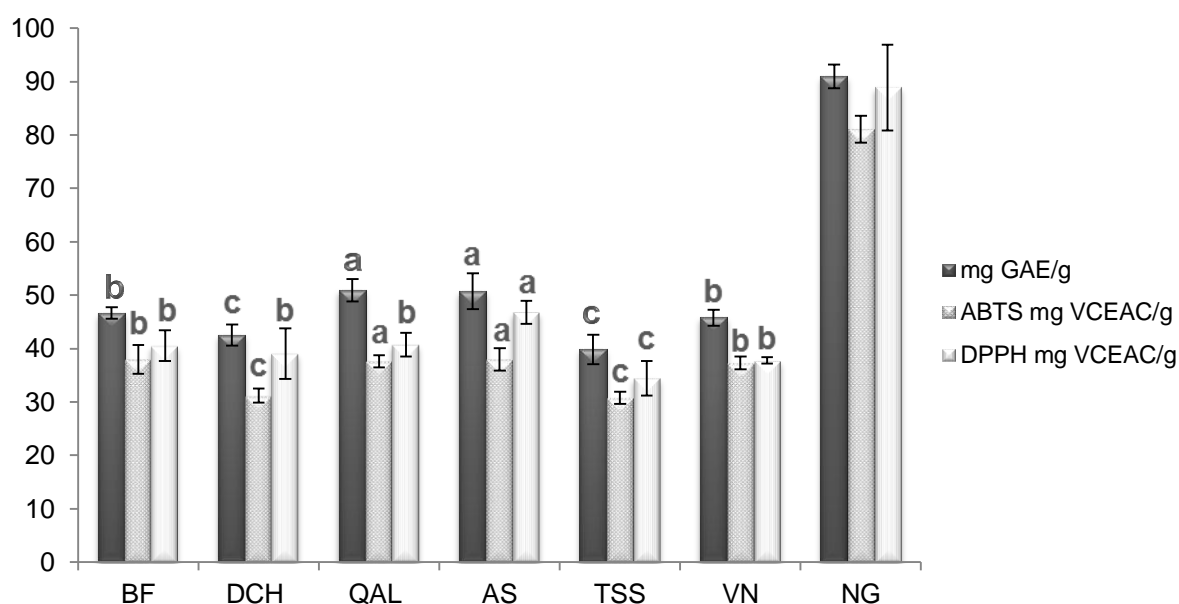


Figura 4.25 - Teor de polifenóis totais determinados pelo método de *Folin Ciocalteu* expressos em mg GAE/g, a capacidade antioxidante expressa em mg VCEAC/g determinada pelos métodos ABTS e DPPH. As diferentes letras (a, b, c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café. Abreviaturas: BF – *blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - café controlo, torrado e moído, para extração nas máquinas de café *Briel* (máquina doméstica fabricada em Portugal) e *La Cimbali* (máquina profissional da restauração fabricada em Itália); QAL - cápsula controlo de café torrado e torrefacto, para extração em máquina *DQOOL* (máquina doméstica de cápsulas fabricada na China para a empresa Novadelta); AS - café rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina; TSS - café com pele de prata, acondicionado sob a forma de pastilhas; NV - café com vitaminas; NG - café solúvel, com 65 % de café torrado e 35 % de café verde; GAE - equivalentes de ácido gálico e VCEAC - capacidade antioxidante equivalente em vitamina C.

O presente estudo não fundamenta o realizado anteriormente (cafés torrados que constituem o CTBF (café torrado utilizado na formulação do *blend* final, constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica)). As amostras individuais que constituem o CTBF em diferentes percentagens (RAT, RCT, ABT, AHT e ATT) foram analisadas com uma granulometria semelhante (partículas de dimensões inferiores a 425 μm). Já as amostras adquiridas no mercado tinham uma granulometria característica, que diferenciava os diferentes cafés, moagem fina (moagem máquina). Nestes cafés a granulometria das partículas (moagem) teve um peso superior ao grau de torra, dado que quanto maior a área de contato entre partículas e solvente, maior o teor de compostos bioativos absorvidos e detetados (figura 4.26). Verifica-se uma forte correlação entre as dimensões das partículas, o teor de polifenóis totais ($R^2 = 0,847$) e a capacidade antioxidante pelo método DPPH ($R^2 = 0,723$). Para o método ABTS verificou-se uma correlação moderada entre a dimensão das partículas *versus* capacidade antioxidante ($R^2 = 0,407$).

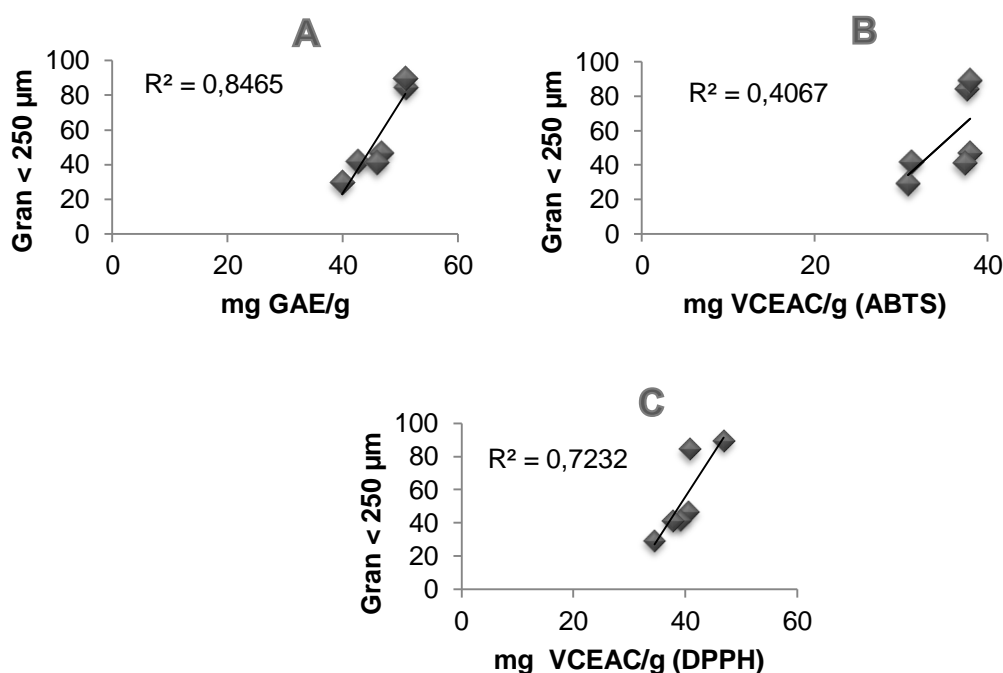


Figura 4.26 - Relação entre a granulometria das partículas do café torrado moído adquiridas no mercado português e o teor de polifenóis totais (A), a capacidade antioxidante pelos métodos ABTS (B) e DPPH (C) ($n=6$). As abreviaturas têm o seguinte significado: Gran - Granulometria GAE - equivalentes de ácido gálico e VCEAC - capacidade antioxidante equivalente em vitamina C.

Bebidas

Uma chávena de café (180 mL) pode conter 396 mg de polifenóis [284]. O teor de polifenóis numa chávena de café expresso (25 mL) apresentou resultados (tabela 4.44) que variaram entre os 197,14 mg (extração do controlo DCH pela máquina doméstica *Briel*) e os 282,90 mg (extração do controlo QAL pela máquina doméstica de cápsulas *DQOOL*). Verificou-se uma diferença significativa na extração das bebidas pelas diferentes máquinas. A máquina *DQOOL* mostrou-se mais eficiente na extração dos compostos fenólicos e de outros compostos bioativos com capacidade de remoção dos radicais livres pelo método ABTS. A máquina *La Cimbali* apresentou a segunda melhor extração e a *Briel* uma extração menos eficiente. A eficiência da extração deve-se à pressão do equipamento e

respetiva capacidade de extração de sólidos solúveis para a bebida e por sua vez de compostos antioxidantes.

Tabela 4.44 - Resultados da capacidade antioxidante avaliada pelos diferentes métodos Folin Ciocalteu, ABTS e DPPH, para as bebidas correspondentes ao *blend* final BF e controlos (DCH e QAL) extraídas pelas máquinas *Briel*, *QOOL* e *La Cimbali*.

	Folin Ciocalteu (mg GAE/mL)	ABTS (mg VCEAC/mL)	DPPH (mg VCEAC/mL)
DCHBriel	7,89 ± 0,35 ^c	5,73 ± 0,19 ^d	2,82 ± 0,30 ^b
BFBriel	8,63 ± 0,32 ^c	6,69 ± 0,60 ^c	3,64 ± 0,13 ^a
QALQOOL	11,32 ± 0,95 ^a	7,78 ± 0,31 ^a	4,12 ± 0,09 ^a
BFQOOL	10,10 ± 0,33 ^b	7,99 ± 0,33 ^a	3,87 ± 0,31 ^a
DCHLaCimbali	9,17 ± 0,19 ^b	7,41 ± 0,30 ^b	3,83 ± 0,12 ^a
BFLaCimbali	9,22 ± 0,08 ^b	7,31 ± 0,43 ^b	3,85 ± 0,30 ^a

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=4). As diferentes letras (a, b, c, d) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes amostras de café.

Nas bebidas de café extraídas, o controlo QALQOOL, quando comparado com as restantes bebidas, apresentou um teor superior de polifenóis totais (tabela 4.44). De notar que a granulometria relativamente mais fina e o teor de café torrefacto que caracteriza esta amostra vão permitir uma extração superior de sólidos solúveis e por sua vez de polifenóis. O aumento da atividade antioxidante no café torrefacto foi confirmado por diversos autores [45]. As diferenças entre as extrações obtidas pelas três máquinas de café expresso apresentaram-se superiores na diferenciação da composição das amostras, no que diz respeito ao teor de compostos antioxidantes, quando comparada com a composição das amostras sólidas (café torrado moído).

Note-se que apesar de alguns antioxidantes naturais serem eliminados durante o aquecimento, as propriedades antioxidantes da bebida de café podem ser mantidas ou melhoradas pela formação de novos antioxidantes, tais como os produtos da reação de *Maillard* (melanoidinas) [138, 263].

4.5.9. Peroxidação lipídica

Não se detetou oxidação lipídica no *blend* final BF, café verde e cacau. A única amostra que obteve resultado positivo foi a pele de prata com $330 \pm 48 \text{ nM cm}^{-1} \text{ MDA}$.

Assim, os dados sugerem que os antioxidantes naturais presentes no café e derivados, a par dos compostos fenólicos, conferiram proteção contra a peroxidação lipídica, tal como se apontou para a peroxidação da pele de prata. A película aderente ao grão apresenta baixo teor de compostos fenólicos e foi a única que apresentou peroxidação lipídica detetável, embora numa concentração muito reduzida. Comprova-se assim, também neste estudo, que alimentos suscetíveis à oxidação lipídica poderão ser protegidos aquando da submissão a temperaturas elevadas desde que contenham na sua composição antioxidantes naturais com propriedades para eliminar o oxigénio singuleto, doar átomos de hidrogénio, remover iões metálicos e decompor hidroperóxidos [285]. Acresce ainda que o café torrado, café verde e cacau também não terão apresentado peroxidação

lipídica devido ao elevado teor de antioxidantes. Paralelamente, a pele de prata, apesar de apresentar um nível de peroxidação lipídica muito reduzida, foi protegida pelos antioxidantes, facto a que não terá sido alheio o baixo teor de lípidos que contém.

4.5.10. Cafeína, trigonelina e teobromina

4.5.10.1. Cafeína

A determinação da cafeína é considerada um parâmetro analítico discriminante das espécies de café arábica e robusta, cujos teores poderão variar entre 10 – 40 mg/g [77].

As amostras de café estudadas variaram no teor de cafeína de acordo com a espécie e a origem geográfica. Os teores de cafeína foram, conforme esperado, mais elevados para os cafés robusta (tabela 4.45). Note-se que o teor de cafeína em cafés torrados de diversas origens geográficas varia, respetivamente, de 12,1 a 16,1 mg/g para o arábica e 20,8 a 26,8 mg/g para o café robusta [286].

A cafeína não sofre alterações significativas após a torra [286]. No entanto, alguns autores verificaram que em torras mais escuras o teor de cafeína é inferior ao submetido a torras mais claras [140]. Os cafés torrados das diferentes origens, e os *blends* formulados, apresentaram teores de cafeína similares aos determinados por outros autores [219]. A amostra RAT, correspondente ao robusta de Angola, apresentou o maior teor de cafeína (29,64 mg/g) enquanto o ATT, correspondente ao arábica Timor, apresentou o menor (12,56 mg/g). Assim, além da espécie, também o grau de torra condiciona o teor de cafeína, tendo este sido superior no café robusta de Angola RAT (torra clara), tal como verificado por Bicho [219].

Tabela 4.45 - Teor de cafeína nos cafés torrados correspondentes às diferentes origens geográficas (RAT, RCT, ABT, AHT e ATT) e nos *blends* formulados a partir dos mesmos cafés (*Blend 1*, *Blend 2* e *Blend 3*).

Cafés torrados	Teor de cafeína (mg/g)
RAT	29,64 ± 2,06 ^a
RCT	24,55 ± 1,48 ^b
ABT	14,00 ± 0,53 ^d
AHT	15,10 ± 2,34 ^d
ATT	12,56 ± 0,98 ^e
<i>Blend 1</i>	17,08 ± 0,70 ^d
<i>Blend 2</i>	19,68 ± 1,52 ^c
<i>Blend 3</i>	25,62 ± 0,91 ^b

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=4). As diferentes letras (a, b, c, d, e) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café. Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor; *Blend 1* – *blend* composto por 25 % café robusta e 75 % café arábica; *Blend 2* – *blend* composto por 50 % café robusta e 50 % café arábica e *Blend 3* – *blend* composto por 75% café robusta e 25% café arábica.

O teor de cafeína dos *blends* é proporcional à composição de café arábica e robusta, aumentando assim com o incremento de robusta na composição dos *blends*. Os *blends* 1, 2 e 3 (tabela 4.45), constituídos por 25 %, 50 % e 75 % de robusta apresentaram, respetivamente, teores de cafeína de 17,08 mg/g, 19,68 mg/g e 25,62 mg/g. Verificou-se alguma variabilidade no teor de cafeína das matérias-primas constituintes do *blend* final BF (tabela 4.46).

Tabela 4.46 - Teor de cafeína das matérias-primas que constituem o *blend* final BF (CTBF, café dourado, pele de prata e cacau).

	Teor de cafeína (mg/g)
CTBF	22,26 ± 0,46
Café dourado	26,44 ± 1,85
Pele de prata	21,91 ± 2,17
Cacau	3,66 ± 0,38

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=4) das amostras em matéria seca. Abreviatura: CTBF - café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica.

O cacau apresentou 3,66 mg/g de cafeína, superior ao encontrado na bibliografia 2,40 mg/g [287].

O resultado da pele prata (21,91 mg/g) também foi superior ao detetado por outros autores [263], entre 8,1 e 13,7 mg/g, com valores superiores para o café robusta de algumas origens, e valores inferiores para os cafés arábica. No entanto, não se verificou uma uniformidade nos teores determinados nos cafés das diferentes espécies e origens [263]. O teor de cafeína pode ser afetado, aquando de torras mais intensas, pela migração dos compostos solúveis (do interior para o exterior do grão).

O café dourado apresentou um teor mais baixo que o café robusta de Angola RAT. O café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica CTBF apresentou um teor intermédio entre o *Blend* 2 e o 3, proporcional à composição (70 % robusta e 30 % arábica).

O teor de cafeína foi inferior no *blend* final BF comparativamente aos controlos (tabela 4.47). A extração da cafeína foi mais eficiente no controlo QAL uma vez que a dimensão das partículas era mais reduzida, o controlo *DCH* também apresentou um teor de cafeína superior porque a quantidade de robusta é superior.

Tabela 4.47 - Teor de cafeína no *blend* final BF e nos controlos DCH e QAL.

	Teor de cafeína (mg/g)
BF	20,45±0,70 ^b
DCH	24,17±0,97 ^a
QAL	22,80±1,62 ^a

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras em matéria seca. As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café. Abreviaturas: BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - café controlo, torrado e moído, para extração nas máquinas de café *Briel* (máquina doméstica fabricada em Portugal) e *La Cimbali* (máquina profissional da restauração fabricada em Itália); QAL - cápsula controlo de café torrado e torrefacto, para extração em máquina *DQOOL* (máquina doméstica de cápsulas fabricada na China para a empresa Novadelta).

A extração da cafeína foi mais eficiente pela máquina *DQOOL* do que pela *Briel* (tabela 4.48). O *blend* final BF apresentou um teor de cafeína superior aos controlos. Os valores obtidos para os cafés expressos foram superiores aos analisados por Maeztu *et al.* [288], em que o teor de cafeína foi 2,09 mg/mL para os cafés expressos arábica e 2,88 mg/mL para os robusta. Todas as formulações correspondiam a moagens finas (moagens máquina). No entanto, a que apresentava partículas superiores era a amostra DCH. Já a que apresentava partículas mais finas era a QAL. A variação de massa das cápsulas *Delta Q* (5,5 - 6 g), que foram adquiridas no mercado, também pode ter contribuído para o menor teor de cafeína (as cápsulas do BF apresentavam 6 g).

Tabela 4.48 - Teor de cafeína nas bebidas de café expresso BFBriel, DCHBriel, BFQOOL e QALQOOL.

	Teor de cafeína	
	(mg/mL)	mg/expresso
BFBriel	3,13±0,04 ^b	84,16±2,46
DCHBriel	2,96±0,14 ^b	79,93±3,84
BFQOOL	3,50±0,18 ^a	90,89±1,37
QALQOOL	3,15±0,10 ^b	78,81±2,53

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras, em matéria seca. As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café.

No entanto, os teores de cafeína (79,93 - 90,89 mg / chávena com 25 mL) estão de acordo com um estudo realizado em Portugal, cujos valores para um café expresso se situavam entre 54 e 92 mg cafeína / chávena com 30 mL, para um café expresso médio [289]. Os cafés extraídos apresentaram um volume de 25 mL e os valores de cafeína situaram-se entre 2,96 - 3,50 mg/mL, resultados equiparáveis aos obtidos por Santini *et al.* [290], cujo teor de cafeína para um expresso italiano, com um volume de 25 mL, apresentava em média 3,33 mg/mL, ou seja 83 mg/chávena [290]. Também Illy [261] detetou um teor de cafeína equivalente que variou entre 2,6-3,8 mg/mL, enquanto que Albanese *et al.* [98] verificaram que o teor de cafeína era extraído mais eficientemente com o aumento da temperatura de percolação. Verificaram ainda nesse estudo um teor mínimo de cafeína numa extração à temperatura de percolação de 90 °C, um teor de cafeína no café expresso de 2,59 mg/mL, assim como um teor máximo de 4,65 mg/mL na extração realizada a uma temperatura de percolação de 110 °C. O expresso médio em Portugal apresenta um teor de cafeína de 75 mg por chávena de 30 mL [289]. Os controlos DCHBriel e QALQOOL apresentaram 79 mg (média) por chávena de 25 mL.

As bebidas extraídas a partir do *blend* final BF apresentaram valores superiores, compreendidos entre 84 e 91 mg por chávena. De referir que as extrações apresentam variações não negligenciáveis, que influenciam a composição da bebida, bem como as percentagens de café robusta adicionados aos *blends*, o grau de moagem, a massa adicionada à cápsula ou ao porta-filtros, a pressão da máquina, a temperatura e volume da água e o tempo de extração.

4.5.10.2. Trigonelina

A concentração de trigonelina nas diferentes amostras também depende da espécie e intensidade da torra. Alguns trabalhos sugerem a possibilidade de determinação indireta do grau de torra de um café através do seu conteúdo residual de trigonelina [291]. A espécie *C. arabica* apresentou um maior teor de trigonelina nas amostras estudadas (tabela 4.49).

Tabela 4.49 - Teor de trigonelina nos cafés torrados correspondentes às diferentes origens geográficas (RAT, RCT, ABT, AHT e ATT) e nos *blends* formulados a partir dos mesmos cafés (*Blend 1*, *Blend 2* e *Blend 3*).

Cafés torrados	Teor de trigonelina (mg/g)
RAT	4,71 ± 1,17 ^c
RCT	4,63 ± 0,23 ^c
ABT	7,50 ± 0,32 ^a
AHT	7,10 ± 0,14 ^a
ATT	6,83 ± 0,50 ^a
<i>Blend 1</i>	6,59 ± 0,23 ^b
<i>Blend 2</i>	5,92 ± 0,08 ^b
<i>Blend 3</i>	5,34 ± 0,09 ^c

Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=4). As diferentes letras (a, b,c) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café. Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor; *Blend 1* – *blend* composto por 25 % café robusta e 75 % café arábica; *Blend 2* – *blend* composto por 50 % café robusta e 50 % café arábica e *Blend 3* – *blend* composto por 75% café robusta e 25% café arábica.

As torras não apresentaram influência considerável uma vez que os cafés robusta foram submetidos a uma torra média clara e os cafés arábica a uma torra média. Note-se que o café verde apresenta um teor de trigonelina superior ao café torrado [219] [259].

Obtiveram-se teores que variaram entre 6,83-7,50 mg/g para o café arábica com torra média e 4,63 a 4,71 mg/g para o robusta com torra clara (tabela 4.49). O café arábica do Brasil apresentou um teor de trigonelina superior às amostras com origens em Timor e Honduras. Os *blends* formulados com os cafés de diferentes espécies, origens e torras apresentaram um teor de trigonelina correspondente às percentagens de cada café adicionado à sua composição. O *blend* com mais café arábica apresentou teor de trigonelina superior.

As concentrações verificadas estão concordantes com as verificadas por outros autores: 2,8 a 9,60 mg/g para arábica [292] e 0,97 a 6,32 mg/g para robusta [286] – amostras, correspondentes a cafés de diversos países.

Em relação ao café arábica Brasil verificou-se que o teor de cafeína é quase o dobro do teor de trigonelina e que a torra influencia substancialmente o teor de trigonelina. O mesmo café pode apresentar diversos teores para diferentes graus de torra [292].

Relativamente às matérias-primas (tabela 4.50), os resultados obtidos para o *blend* de café torrado CTBF são concordantes com a composição que o caracteriza (70 % robusta; 30 % arábica), quando comparado com as amostras isoladas dos cafés provenientes das diferentes origens (tabela 4.49). Para o café dourado, considerando o processamento a que foi submetido, apresenta um teor de trigonelina de 8,48 mg/g, ligeiramente inferior ao indicado por outros autores para cafés verdes robusta (9,7 - 10,1 mg/g) [259]. A pele de prata apresentou uma concentração de 4,36 mg/g.

Tabela 4.50 - Teor de trigonelina nas matérias-primas que constituem o *blend* final BF (CTBF, café dourado, pele de prata e cacau).

Amostra	Teor de trigonelina (mg/g)
CTBF	6,02 ± 0,49
Café dourado	8,48 ± 0,56
Pele de prata	4,36 ± 0,41
Cacau	n.d.

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras, em matéria seca. Abreviaturas: CTBF - Café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica; n.d. - não detetado.

Os diferentes *blends*, correspondentes aos controlos, apresentaram um teor de trigonelina inferior face ao *blend* final BF (tabela 4.51). Isto decorre da incorporação de 1 % de café dourado que, independentemente da espécie, apresenta um teor de trigonelina superior a qualquer café torrado.

Tabela 4.51 - Teor de trigonelina no *blend* final BF e nos controlos DCH e QAL.

Amostra	Teor de trigonelina (mg/g)
BF	6,21 ± 0,07 ^a
DCH	5,93 ± 0,22 ^a
QAL	6,02 ± 0,49 ^a

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras em matéria seca. A letra (a) indica ausência de diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café. Abreviaturas: BF - *Blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - Café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*; QAL - Café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina DQOOL.

A extração da trigonelina pelas diferentes máquinas foi mais eficiente na máquina DQOOL do que na máquina *Briel* (tabela 4.52). O teor de trigonelina foi nas duas máquinas ligeiramente superior na amostra correspondente ao *blend* final BF. Os resultados obtidos (0,91 - 1,07 mg/mL) são ligeiramente inferiores aos verificados na bibliografia para cafés expresso 1,15 mg/mL [288].

Tabela 4.52 - Teor de trigonelina nas bebidas de café expresso BFBriel, DCHBriel, BFQOOL e QALQOOL.

Teor de trigonelina		
Bebida	(mg/mL)	mg/expresso
BFBriel	1,07 ± 0,00 ^a	28,77 ± 0,58
DCHBriel	0,91 ± 0,04 ^b	24,45 ± 1,11
BFQOOL	1,10 ± 0,08 ^a	28,55 ± 0,80
QALQOOL	1,07 ± 0,02 ^a	26,86 ± 0,39

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras em matéria seca. As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café.

4.5.10.3. Ácido nicotínico e produtos da degradação térmica da trigonelina

O ácido nicotínico é formado no decurso da torra [293]. Contudo, dependendo das condições em que é realizada (tempo / temperatura), também pode ser degradado [294]. A degradação da trigonelina origina compostos voláteis e não voláteis. Os principais componentes não-voláteis oriundos da degradação da trigonelina verificados num estudo foram a niacinamida, o metil-nicotinato e a N-metil-nicotinamida [295]. Os teores de ácido nicotínico verificados (tabela 4.53) foram superestimados pelos compostos resultantes da degradação térmica da trigonelina que inclui n-metilpiridinas, ácido nicotínico e nicotinamida.

Tabela 4.53 - Teor de compostos resultantes da degradação da trigonelina (ácido nicotínico, n-metil piridinas e nicotinamida) nas bebidas de café expresso BFBriel, DCHBriel, BFQOOL e QALQOOL.

Teor de compostos resultantes da degradação da trigonelina		
Bebida	(mg/mL)	mg/expresso
BFBriel	0,29 ± 0,00 ^a	6,20 ± 0,36
DCHBriel	0,23 ± 0,01 ^b	7,72 ± 0,13
BFQOOL	0,31 ± 0,01 ^a	7,77 ± 0,13
QALQOOL	0,31 ± 0,02 ^a	8,00 ± 0,19

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras em matéria seca. As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café.

As bebidas extraídas pela máquina *DQOOL* apresentaram mais derivados da degradação de trigonelina (ácido nicotínico). O *blend* final apresentou um maior teor de derivados da trigonelina quando comparado com o controlo *DCH* extraído pela máquina de café expresso doméstica *Briel*, apresentando uma diferença significativa.

4.5.10.4. Teobromina

A teobromina no cacau em pó desengordurado oscila em torno de 15,50 mg/g [296]. Para a amostra de cacau em pó, parcialmente desengordurado, o teor foi consideravelmente superior (44,19 ± 1,59 mg/g) (tabela 4.54). O rácio cafeína / teobromina foi de 1:12, calculado a partir dos valores das tabelas 4.46 e 4.54). O *blend* final BF apresentou um teor de teobromina proporcional à percentagem de cacau utilizado na formulação do produto. O teor de teobromina foi superior na bebida extraída pela máquina *Briel* porque a extração do cacau pelos poros do porta-filtros é mais eficiente do que na *DQOOL*, onde a retenção do cacau no filtro de celulose é superior.

Tabela 4.54 - Teor de teobromina no cacau, *blend* final (BF sólido) e respectivas bebidas extraídas pelas máquinas *Briel* (BF *Briel*) e *DQOOL* (BF *QOOL*).

Amostra	Teor de teobromina (mg/g)
Cacau	44,19 ± 1,59
BF sólido	0,50 ± 0,03
BF <i>Briel</i>	0,39 ± 0,01
BF <i>QOOL</i>	0,28 ± 0,01

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras, em matéria seca.

A figura 4.27 apresenta os cromatogramas do *blend* final BF e da mistura de padrões que serviu de base para a identificação e a quantificação dos compostos bioativos (cafeína, trigonelina, ácido nicotínico, teobromina e teofilina) nas amostras estudadas.

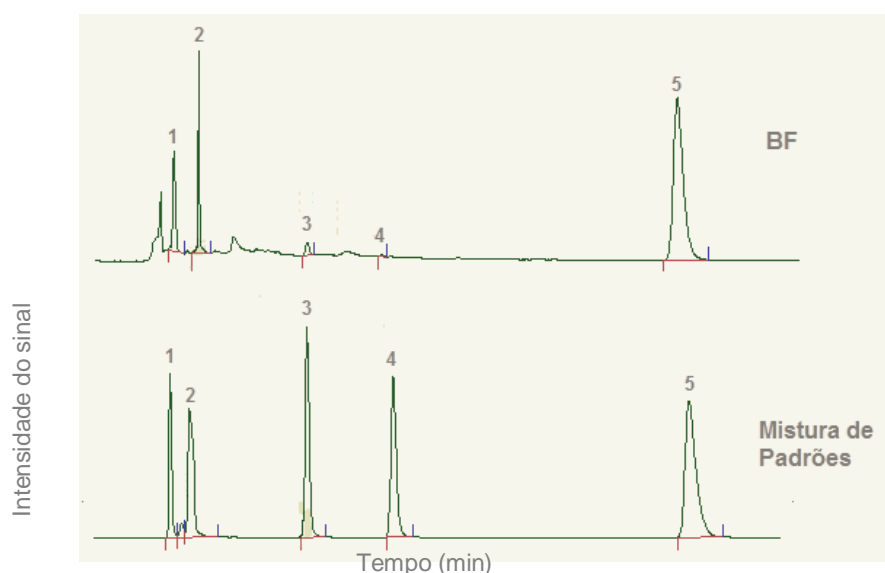


Figura 4.27 - Cromatogramas da mistura de padrões e da amostra correspondente ao *blend* final BF. Os picos identificados e tempos de retenção aproximados correspondem (1; tR = 2,6 min) niacina, (2; tR = 3,2 min) trigonelina, (3; tR = 6,9 min) teobromina, (4; tR = 9,7 min) teofilina e (5, tR = 19 min) cafeína.

4.5.11. Ácidos Clorogénicos

As condicionantes que fazem variar o teor de vários compostos bioativos no café verde, café torrado e respectivas bebidas são os mesmos que fazem variar o teor de CGA nas diferentes amostras. Entre eles destacam-se a espécie, a variedade e a origem geográfica. Foram analisados 9 ácidos clorogénicos (CGAs): ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA), ácido 4-cafeoilquínico (4-CQA), ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), ácido 3-feruloilquínico (3-FQA), ácido 4-feruloilquínico (4-FQA), ácido 5-feruloilquínico (5-FQA), ácido 3,4-dicafeoilquínico (3,4-diCQA), ácido 3,5-dicafeoilquínico (3,5-diCQA) e ácido 4,5-dicafeoilquínico (4,5-diCQA) e identificados 2 CGA (*Caffeoyl-tyrosine* (Angola I) e *p-Coumaroyl-N-tyrosine* (Angola II)) no café da espécie *C. canephora* cv. *robusta* (Angola Amboim).

A espécie *Coffea arabica* apresenta um teor mais baixo de CGA [297]. No entanto enquanto a *C.arabica*, variedade *Bourbon* (Brasil) apresenta um teor de 5,25 % de CGA nos grãos verdes [299], a

C. arabica (Angola) apresenta um teor de 5,65 % [298]. As variações também se verificam para a espécie *C.canephora* (Angola) com um teor de 6,06 % para 9,47 % [298]. Os resultados apresentados para o teor de CGA, total ou para cada CGA individualmente, apresentam discrepâncias muito acentuadas que variam consoante as condições de torra. Os cafés torrados analisados por Correia *et al.* [298] apresentaram teores de CGA total que variaram entre 17,7 - 31,1 mg/g de matéria seca, para uma torra média (200 °C / 11 minutos), enquanto Moon *et al.* [48], para torras mais escuras que variaram entre os 230 °C e os 250 °C com durações entre os 12-21 minutos, detetaram teores de 2,05 a 7,07 mg/g de matéria seca [48]. Liu *et al.* [255] determinaram o teor de CGA em cafés arábica colombianos submetidos a torras de 240 e 210 °C, com a duração de 15 minutos - os resultados foram, respetivamente, 11,03 e 15,38 mg/g.

Os resultados obtidos para o teor de CGA total nas amostras analisadas variaram entre 11,60 para o controlo DCH e 13,29 mg/g para o *blend* final BF (tabela 4.55). Estes resultados sugerem que as amostras apresentaram um teor de CGA total característico das torras médias industriais, cuja temperatura foi ligeiramente mais baixa mas com um tempo de torra significativamente superior.

A destruição dos CGAs do café com a torra pode variar entre 52 e 77 % [298]. O teor de CGA total detetado no café dourado foi de 23,03 mg/g, resultado inferior ao do café verde da mesma espécie e da mesma origem (71,7 mg/g) [298]. Apesar de ser um produto minimamente processado, apresenta uma redução significativa dos CGAs. No entanto, não é tão significativa como a redução verificada nos cafés torrados (tabela 4.55).

Verifica-se que o 5-CQA é o ácido clorogénico que apresenta uma redução mais evidente com a torra: o seu teor decresce gradualmente à medida que aumenta o grau de torra. Para o café *C. canephora* cv. *robusta* (Uganda), foram verificados teores de 5-CQA para o café verde, torra muito clara, torra clara, torra média clara, torra média escura, torra escura e torra muito escura de, respetivamente, 42,43, 38,02, 25,21, 13,47, 4,48, 2,25 e 1,11 mg/g [299]. Estes resultados comprovam o decréscimo do 5-CQA com o processamento / industrialização.

Para a amostra café dourado, verificou-se uma destruição parcial do 5-CQA promovida pela exposição resultante da elevada área de contato das partículas em relação à secagem a que foram submetidas. Este produto minimamente processado apresentou um teor de 5-CQA consideravelmente superior aos *blends* de café torrado analisados. A amostra correspondente ao *blend* final BF apresentou, quando comparada com os controlos DCH e QAL, um teor superior de 3,4-diCQA e 4,5-diCQA. Essa diferença não se evidenciou nos ácidos 3-CQA e 4-CQA nos *blends* de café à exceção do DCH que apresentou um teor ligeiramente inferior.

Tabela 4.55 - Teor de ácidos clorogénicos, determinados em matérias-primas (CD e CTBF), *blend* final BF e respetivos controlos de café torrado e moído DCH e QAL.

Teor de ácidos clorogénicos (mg/g)					
	CD	CTBF	BF	DCH	QAL
3-CQA	2,21±0,22 ^a	2,16±0,26 ^a	2,17±0,11 ^a	1,95±0,09 ^a	2,19±0,16 ^a
4-CQA	3,95±0,44 ^a	3,58±0,32 ^a	3,64±0,16 ^a	3,34±0,20 ^a	3,64±0,32 ^a
5-CQA	12,72±1,64 ^a	4,47±0,66 ^b	4,51±0,39 ^b	3,78±0,31 ^b	4,39±0,36 ^b
Total CQA	18,88	10,21	10,32	9,07	10,22
3-FQA	0,20±0,01 ^b	0,59±0,07 ^a	0,56±0,14 ^a	0,59±0,04 ^a	0,54±0,10 ^a
4-FQA	0,28±0,07 ^b	0,88±0,12 ^a	0,90±0,03 ^a	0,87±0,08 ^a	0,88±0,08 ^a
5-FQA	1,62±0,15 ^a	0,86±0,17 ^b	0,93±0,16 ^b	0,91±0,03 ^b	0,95±0,08 ^b
Total FQA	2,10	2,33	2,39	2,37	2,37
3,4-diCQA	1,09±0,18 ^a	0,28±0,03 ^b	0,30±0,04 ^b	0,04±0,02 ^c	0,01±0,01 ^c
3,5-diCQA	0,79±0,29 ^a	0,12±0,04 ^b	0,12±0,04 ^b	0,09±0,03 ^b	0,13±0,02 ^b
4,5-diCQA	0,17±0,05 ^a	0,16±0,01 ^a	0,16±0,02 ^a	0,03±0,01 ^b	0,02±0,00 ^b
Total diCQA	2,05	0,56	0,58	0,16	0,16
TOTAL CQA	23,03	13,10	13,29	11,60	12,75

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras em matéria seca. As diferentes letras (a,b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras de café. Abreviaturas: CD – café dourado (café verde minimamente processado); CTBF - café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF; BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*; QAL - café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*.

O café dourado (café verde minimamente processado, identificado na figura 4.28 por CD) apresentou, comparativamente com as amostras de café torrado, um decréscimo acentuado dos 3-FQA e 4-FQA. O mesmo já não se verificou para o 5-FQA que não revelou uma degradação tão evidente face aos outros FQAs. As amostras de café torrado apresentaram resultados semelhantes para os FQA totais.

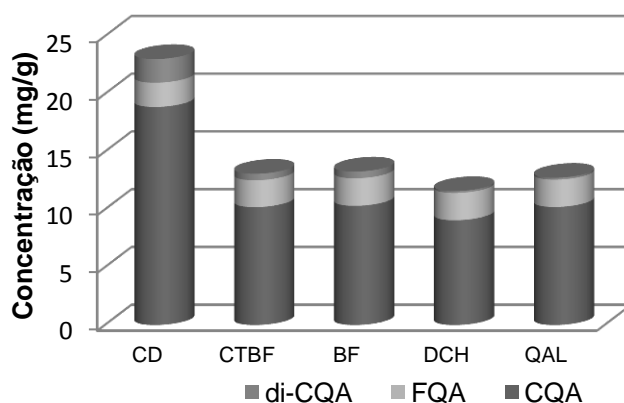


Figura 4.28 - Teor de CGA em subgrupos (di-CQA, FQA e CQA) nas amostras correspondentes às matérias-primas (CD e CTBF), *blend* final BF e controlos (DCH e QAL) em concordância com a tabela 4.55. Abreviaturas: CD – café dourado (café verde minimamente processado); CTBF - café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70% café robusta e 30% café arábica; BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*; QAL - café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*.

O teor de CGA nas bebidas também é influenciado pelos graus de torra e pelas espécies do café: o café robusta apresenta um teor de CGA superior ao arábica [297].

O teor de CGA detetado nas bebidas elaboradas com 10 g para 200 mL de água de café torrado e moído, variou entre 20 e 300 mg/bebida [46]; bebidas de torras escuras apresentaram um teor entre 5,26 e 17,1 mg/g [300].

Constatou-se uma diferença significativa nos resultados das bebidas extraídas pelas máquinas *DQOOL* e *Briel* (mesmo tratando-se da mesma amostra).

Verifica-se que todos os CGA se apresentaram mais concentrados na amostra de expresso BFQOOL relativamente ao QALQOOL. A BFBriel apresentou, em relação ao controlo DCHBriel, um maior teor de CGA. Apresentou teores superiores de 5-CQA, 3,4-diCQA e 4,5 diCQA (tabela 4.56; Figuras 4.29 e 4.30).

Tabela 4.56 - Teor de ácidos clorogénicos (mg/mL) de bebidas de café expresso do *blend* final e respetivos controlos extraídas em máquinas *DQOOL* (BFQOOL e QALQOOL) e *Briel* (DCHBriel e BFBriel).

Concentração (mg/mL) de amostra				
	BFQOOL	QalQOOL	DCHBriel	BFBriel
3-CQA	0,5±0,05 ^a	0,42±0,02 ^a	0,33±0,03 ^b	0,36±0,03 ^b
4-CQA	0,67±0,07 ^a	0,54±0,04 ^a	0,44±0,03 ^b	0,49±0,04 ^b
5-CQA	1,03±0,09 ^a	0,81±0,05 ^b	0,60±0,04 ^c	0,90±0,25 ^b
Total CQA	2,20	1,77	1,37	1,75
3-FQA	0,15±0,01 ^a	0,13±0,01 ^b	0,10±0,01 ^c	0,10±0,01 ^c
4-FQA	0,20±0,02 ^a	0,16±0,01 ^b	0,13±0,01 ^c	0,13±0,01 ^c
5-FQA	0,23±0,02 ^a	0,18±0,02 ^b	0,15±0,01 ^b	0,16±0,01 ^b
Total FQA	0,58	0,47	0,38	0,39
3,4-diCQA	0,05±0,00 ^a	0,03±0,00 ^c	0,01±0,00 ^d	0,04±0,01 ^b
3,5-diCQA	0,03±0,00 ^a	0,02±0,01 ^b	0,01±0,01 ^b	0,02±0,01 ^b
4,5-diCQA	0,03±0,00 ^a	0,02±0,01 ^a	0,01±0,01 ^b	0,02±0,00 ^a
Total diCQA	0,11	0,07	0,06	0,05
TOTAL CGA	2,89	2,31	1,81	2,19

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das bebidas de café expresso. As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as bebidas de café.

A máquina *QOOL* apresentou, quando comparada com a extração realizada pela máquina *Briel*, uma extração mais eficiente de todos os compostos.

O BF apresentou um maior teor de CGA total em relação aos controlos.

Os resultados obtidos para o total de CGA das bebidas, apesar das diferentes extrações, são proporcionais aos obtidos para cada amostra sólida.

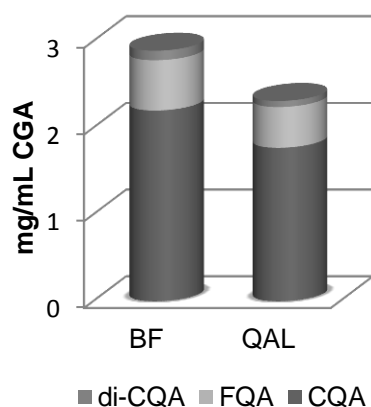


Figura 4.29 - Teor de CGA em subgrupos (di-CQA, FQA e CQA) nas amostras correspondentes às bebidas BF e controles (DCH e QAL) extraídas pela máquina DQOOL.

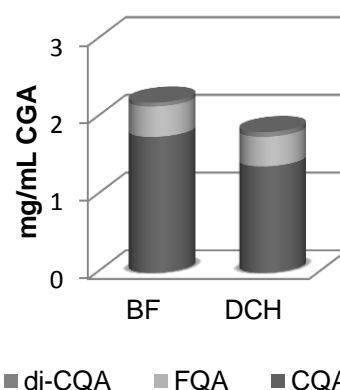


Figura 4.30 - Teor de CGA em subgrupos (di-CQA, FQA e CQA) nas amostras correspondentes às bebidas BF e controles (DCH e QAL) extraídas pela máquina Briel.

Evidências da presença de derivados de CGA *Caffeoyl-tyrosine* (Angola I) e *p-Coumaroyl-N-tyrosine* (Angola II) característicos dos Robustas Angolanos no *blend* final.

A presença de derivados de CGA, característicos dos cafés robusta (*C.canephora*) de Angola, mais concretamente das regiões Ambriz, Amboim e Cazengo são determinantes na identificação da origem geográfica destes cafés quando analisados. O *blend* final BF apresenta 40,8 % de café robusta Angola Amboim torra média clara e 1 % do mesmo café apenas com um tratamento otimizado de secagem do café verde. Correia *et al.* (1995) verificaram que estes compostos não eram completamente destruídos quando submetidos a torras médias [298]. Os diferentes ácidos clorogénicos que constituem o *blend* final BF podem ser observados no cromatograma da figura 4.31.

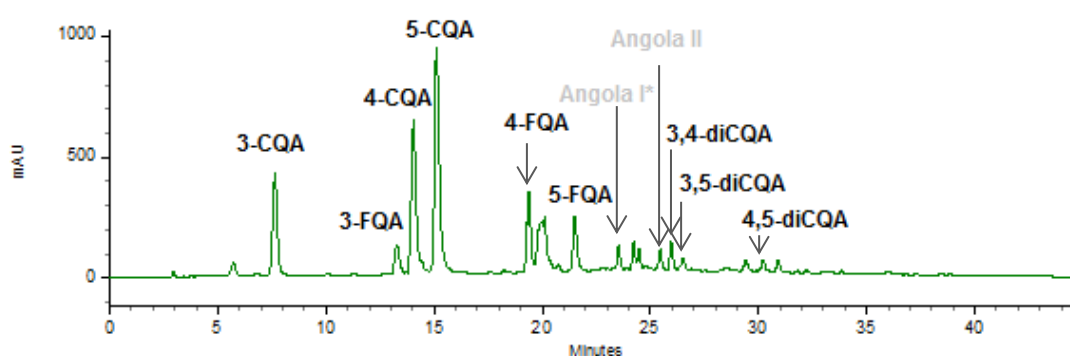


Figura 4.31 - Cromatograma correspondente à análise dos CGAs e compostos derivados Angola I (*N-β-Caffeoyl-tyrosine*) e Angola II (*p-Coumaroyl-N-tyrosine*) da amostra correspondente ao *blend* final BF.

A evidência da presença destes compostos foi comparada com a identificação efetuada primeiramente por Clifford *et al.* [301] quando descobriu o Angola I, mais tarde identificado como sendo o *N-β-Caffeoyl-tyrosine* e depois por Correia *et.al* [298], quando identificou o Angola II que

Clifford & Knight [80] verificaram ser o *p-Coumaroyl-N-tyrosine*. Os cromatogramas evidenciam que os 2 componentes identificados resistem melhor à torra média do que outros CGA e, tal como referido por Correia *et al.* [36] o teor destes compostos que são extraídos para a bebida poderão ter influência no seu carácter. A figura 4.31 corresponde ao cromatograma obtido para o *blend* final e identifica para além dos CGAs comumente estudados, os compostos derivados Angola I (*N-β-Caffeoyl-tyrosine*) e Angola II (*p-Coumaroyl-N-tyrosine*).

4.5.12. Açúcares totais, redutores e não redutores

Os glícidos são os constituintes mais importantes nos grãos de café [63]. A extração dos polissacarídeos do café torrado, para além de depender do tipo de café, depende também do grau da torra [302]. Os grãos de café das duas espécies que constituem os *blends* em estudo apresentam diferenças qualitativas e quantitativas relativamente aos glícidos que as constituem. Os glícidos de baixo peso molecular mais abundantes no endosperma do café são a sacarose, a frutose e a glucose [303]. Outros, menos abundantes, como a manose, ramnose e arabinose também foram identificados e quantificados. Os cafés arábica contém mais sacarose do que os cafés robusta [66]. No entanto, os últimos apresentam um maior teor e uma maior variabilidade de açúcares redutores totais [66].

A sacarose é determinante para o *flavour* do café [304]. O conteúdo de sacarose, bem como a relação de trigonelina / ácido nicotínico também pode ser usado como um indicador do grau de torra pela indústria do café [291]. Os resultados obtidos para o café dourado (51,67 mg/g) apresentam-se em concordância com os resultados obtidos por Perrone *et al.* [292] para o café verde robusta (64,01 ± 1,43 mg/g). Kleinwächter & Selmar [305] verificaram que os cafés verdes arábica, submetidos a diferentes processamentos por via húmida e via seca, apresentavam resultados para a sacarose compreendidos entre 55 e 65 mg/g. De notar que o café dourado resulta de um tratamento de secagem otimizada, cujos resultados não se poderão comparar com os do café verde nem com os cafés de torra clara. No entanto, verifica-se que com o tratamento há uma inversão parcial da sacarose.

Os teores de glucose e frutose, por sua vez, também variam consoante o tipo de processamento. Para cafés arábica foram verificados teores de glucose entre 55 mg/100 g (via húmida) e 150 mg/100 g, de frutose, entre 110 mg/100 g e 250 mg/100g [305, 306]. O café dourado apresentou teores de 2730 mg/100g de glucose, 1734 mg/100g de frutose e 268 mg/100g de manose.

O teor de açúcares redutores totais em grãos de café pertencentes à espécie *C. canephora* de diferentes variedades, incluindo a robusta, variam entre 3,7 e 4,6 %, apresentando a variedade *Bukobensis* o maior teor (4,90 %) [307]. O café dourado apresentou 4,73 % de açúcares redutores totais e 5,17 % de açúcares não redutores.

Os açúcares de baixo peso molecular encontrados no café verde arábica Brasil foram de 7,79 %, na matéria seca [306]. O teor no café dourado foi de 9,90 %.

A pele de prata estudada apresenta um teor de açúcares favorável à produção de frutoligosacarídeos, na medida em que o teor de sacarose é relativamente baixo (1,59 mg/g) (tabela 4.57) e os teores dos açúcares redutores frutose e glucose elevados (8,28 e 11,33 mg/g, respetivamente) o que evidencia potencial para produção de prebióticos a partir do subproduto, que foi confirmada por Mussato e Teixeira [308] aquando da síntese de frutooligosacarídeos a partir da fermentação em estado sólido da pele de prata por *Aspergillus japonicus*.

Tabela 4.57 - Composição de açúcares nas matérias-primas pele de prata e cacau.

	Sacarose (mg/g)	Frutose (mg/g)	Glucose (mg/g)	Manose (mg/g)	Açúcares Totais (mg/g)	Açúcares redutores (mg/g)
Pele de prata	1,59±0,28	8,28±0,99	11,33±1,83	2,13±0,75	23,33	21,74
Cacau	17,55±0,16	17,71±0,45	14,68±0,65	3,43±0,26	53,37	35,82

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras na matéria seca.

A fermentação das sementes de cacau apresenta-se como uma etapa crítica do processamento do cacau em pó e com influência na formação de açúcares redutores [239]. Os açúcares redutores apresentam-se como um dos principais precursores do *flavour* desenvolvidos por reações enzimáticas e não enzimáticas [309].

A torra do café, através da reação de *Maillard*, promove a degradação de 90 % da sacarose [261], originando uma coloração caramelizada escura nos grãos e, pela degradação de *Strecker*, formando açúcares redutores devido à elevação da temperatura na pirólise. Esta degradação permite a formação de compostos responsáveis pelo sabor e aroma, tendo impacto na qualidade da bebida final (características organoléticas). O teor de açúcares que constituem os *blends* de café torrado, para além de serem influenciados pelas espécies e processamento, são também, tal como outros compostos, condicionados pela torra. O teor de açúcares totais variou entre 21,4 e 32,0 mg/g para torras claras [310] e entre 7,7 e 16,3 mg/g para torras médias [311]. Estes resultados evidenciam a perda de açúcares totais com o grau de torra para formação de outros compostos (melanoidinas). Nos controlos, os teores de açúcares totais foram de 8,8 mg/g para o controlo DCH, 19,6 mg/g para o controlo QAL e 22,2 mg/g para o *blend* final BF. O teor de açúcares totais foi superior no controlo QAL em relação ao DCH uma vez que o primeiro tinha na sua constituição café torrefacto composto com sacarose e extrato de alfarroba. O *blend* final BF apresenta uma matriz mais complexa, recheada de açúcares provenientes das matérias-primas café dourado, cacau e pele de prata, para além do café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70 % café robusta e 30 % café arábica CTBF. No que diz respeito aos açúcares não redutores (sacarose), os teores nos controlos DCH e QAL são equivalentes, sendo significativamente superiores no *blend* final BF (tabela 4.58). Em relação aos açúcares redutores, a matriz 100 % café (DCH) apresenta um teor de 7,6 mg/g, aproximado dos valores citados por Lopes [310], cujos teores variavam entre 7,7 e 9,3 mg/g. Devido à sua matriz complexa, o *blend* final BF e o controlo QAL apresentavam um teor superior de açúcares redutores.

Tabela 4.58 - Composição de açúcares nos *blend* final BF e nos controlos DCH e QAL.

	Sacarose (mg/g)	Frutose (mg/g)	Glucose (mg/g)	Manose (mg/g)	Açúcares Totais (mg/g)	Açúcares redutores (mg/g)
BF	2,84 ± 0,20 ^a	9,49 ± 0,57 ^a	6,51 ± 0,06 ^b	3,39 ± 0,13 ^a	22,23	19,39
DCH	1,21 ± 0,12 ^b	7,55 ± 0,28 ^b	n.d.	n.d.	8,76	7,55
QAL	1,22 ± 0,09 ^b	7,94 ± 0,25 ^b	8,17 ± 0,29 ^a	2,27 ± 0,24 ^b	19,60	18,38

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=9) das amostras em matéria seca. As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as bebidas de café. Abreviaturas: BF - *Blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - Café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*; QAL - Café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*.

O impacto dos açúcares na bebida traduz-se no contributo dos mesmos para o *flavour*. Comparativamente às máquinas *Briel* e *La Cimbali*, verificou-se uma extração mais eficiente dos açúcares nas bebidas de café expresso extraídas pela máquina *DQOOL* (tabela 4.59). Nas máquinas *DQOOL* e *Briel*, o *blend* final BF apresentou um maior teor de açúcares redutores e totais quando comparado com a máquina *La Cimbali*. Essa diferença também foi verificada para os controlos. As bebidas extraídas nas máquinas domésticas *DQOOL* e *Briel*, apresentaram um maior teor de açúcares detetáveis. A *La Cimbali*, como máquina profissional da restauração, apresenta diferentes teores de açúcares redutores. Estes, possivelmente devido à temperatura e pressão da máquina, não foram detetados. A sacarose pode ter sido invertida, aumentando a frutose.

Tabela 4.59 - Composição de açúcares nas bebidas de café correspondentes aos controlos DCH e QAL e *blend* final BF após extração em máquinas *DQOOL*, *Briel* e *La Cimbali*.

	DQOOL		Briel		La Cimbali	
(mg/mL)	BFQOOL	QALQOOL	BFBriel	DCHBriel	BFLaCimbali	DCHLaCimbali
Sacarose	0,22±0,01 ^b	0,37±0,03 ^a	0,3±0,02 ^a	n.d.	n.d.	n.d.
Frutose	3,21±0,55 ^b	2,84±0,35 ^b	2,25±0,26 ^b	2,62±0,19 ^b	10,3±1,53 ^a	11,77±1,17 ^a
Glucose	3,96±0,63 ^a	3,95±0,85 ^a	3,05±0,35 ^a	4,32±0,92 ^a	n.d.	n.d.
Ramnose	12,44±1,22 ^b	13,68±0,62 ^a	9,91±0,09 ^c	8,35±0,49 ^d	2,01±0,23 ^e	2,54±0,25 ^e
Manose	0,65±0,09 ^b	0,75±0,09 ^b	n.d.	0,85±0,08 ^b	1,13±0,28 ^a	0,87±0,16 ^b
Arabinose	4,14±1,33 ^a	2,63±1,91 ^a	3,24±0,18 ^a	2,55±0,16 ^a	n.d.	n.d.
Açúcares Totais	24,62	24,61	18,75	18,69	13,44	15,18
Açúcares redutores	24,40	24,24	18,45	18,69	13,44	15,18

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=3) das bebidas de café expresso. As diferentes letras (a, b, c, d, e) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as bebidas de café. Abreviatura: n.d. - não detetado.

A presença intacta da glucose como açúcar principal em frações ricas em melanoidinas indicam que a sacarose está provavelmente envolvida na sua formação [312], o que justifica o seu baixo teor no café torrado e residual nas bebidas de café expresso.

4.5.13. Ácidos orgânicos não voláteis

Os teores de ácidos orgânicos influenciam a acidez das bebidas de café. Esta, quando equilibrada, é desejável na bebida e considerada um atributo de qualidade sensorial. Já quando é elevada, é considerada um defeito. Uma acidez elevada poderá ter origem em grãos provenientes de regiões de altitudes elevadas, solos vulcânicos e processamento por via húmida. Também a torra e a preparação da bebida influenciam a acidez da bebida. As torras médias apresentam uma maior acidez total e melhores atributos sensoriais. O teor de ácidos orgânicos varia com a origem geográfica e a acidez no café verde é condicionada pelos solos onde o café foi cultivado, pela altitude e pelas épocas de colheita [313].

Como é verificado na tabela 4.60, o cacau apresenta um teor elevado de ácido cítrico.

Tabela 4.60 - Composição de ácidos orgânicos nas matérias-primas pele de prata e cacau.

Amostra	Ácido cítrico (mg/g)	Ácido sucínico (mg/g)	Ácido oxálico (mg/g)	Total de ácidos orgânicos (mg/g)
Pele de prata	24,64 ± 7,56	0,57 ± 0,20	4,34 ± 0,60	29,55
Cacau	43,58 ± 0,17	1,02 ± 0,16	14,57 ± 0,89	59,17

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras em matéria seca.

O controlo DCH apresentou um teor de ácido cítrico superior ao *blend* final BF, por sua vez o controlo QAL apresentou um teor inferior. O *blend* final BF apresentou um teor de ácido sucínico superior aos controlos (tabela 4.61).

Tabela 4.61 - Composição de ácidos orgânicos nos *blends* de café BF e nos controlos DCH e QAL.

Amostra	Ácido cítrico (mg/g)	Ácido sucínico (mg/g)	Total de ácidos orgânicos (mg/g)
BF	18,73 ± 0,97 ^a	1,16 ± 0,15 ^a	19,89
DCH	20,17 ± 1,57 ^a	0,75 ± 0,14 ^b	20,92
QAL	16,40 ± 1,23 ^b	0,75 ± 0,29 ^b	17,15

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das amostras em matéria seca. As diferentes letras (a,b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as bebidas de café. Abreviaturas: BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais; DCH - café do mercado, torrado e moído, controlo das extrações nas máquinas de café expresso *Briel* e *La Cimbali*; QAL - café do mercado constituído por café torrado e torrefato sob o formato de cápsula, controlo da extração em máquina *DQOOL*.

Através da extração a variação do teor de ácidos orgânicos a partir das diferentes máquinas revelou diferenças (tabela 4.62). A máquina *DQOOL* apresentou, relativamente às restantes, uma extração mais eficiente dos compostos presentes no café. O teor de ácido cítrico evidenciou-se no controlo DCH. No entanto, o maior teor de ácido sucínico, possivelmente resultante do cacau, originou o maior teor de ácidos orgânicos para as bebidas de café expresso BF (extraídas pelas 3 máquinas).

Tabela 4.62 - Composição de ácidos orgânicos nas bebidas de café após extração em máquinas *Briel*, *DQOOL* e *La Cimbali*.

		Ácido cítrico (mg/mL)	Ácido succínico (mg/mL)	Total de ácidos orgânicos (mg/mL)
Briel	BFBriel	8,90 ± 1,66 ^a	1,12 ± 0,00 ^b	10,02
	DCHBriel	9,20 ± 0,83 ^a	0,57 ± 0,17 ^b	9,77
DQOOL	BFQOOL	11,01 ± 1,57 ^a	2,83 ± 0,48 ^a	13,84
	QALQOOL	9,42 ± 2,82 ^a	0,32 ± 0,09 ^b	9,74
La Cimbali	BFLaCimbali	2,48 ± 0,51 ^b	1,56 ± 0,62 ^a	4,04
	DCHLaCimbali	3,32 ± 0,91 ^b	n.d.	3,32

Os resultados representam a média ± desvio padrão (n=4) das bebidas de café expresso. As diferentes letras (a, b) indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as bebidas de café.

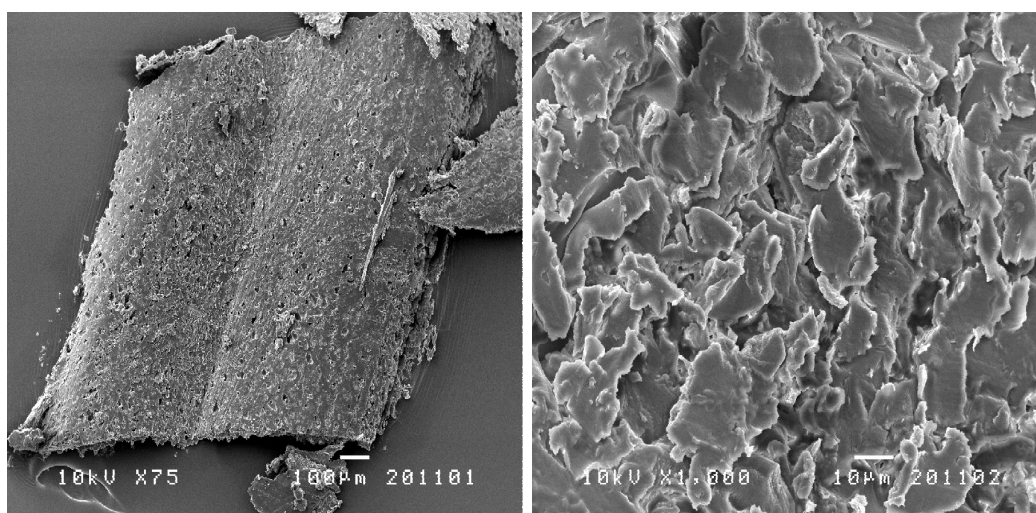
4.5.14. Ultraestrutura do *blend* final

A microscopia eletrônica de *scanning* (SEM) apresenta-se como um método rápido e eficiente na caracterização da morfologia das amostras.

Caracterização dos cafés verdes e torrados das diferentes origens

As observações SEM caracterizam as paredes celulares de duas amostras de café verde que foram incorporadas no *blend*.

Verifica-se que as amostras de café apresentam dimensões celulares diferentes. O café robusta (via seca natural) (figura 4.32) evidencia uma contração e expansão celular superior ao arábica de Timor (via húmida) (figura 4.33).

**Figura 4.32** - Café verde robusta Angola (RAV).

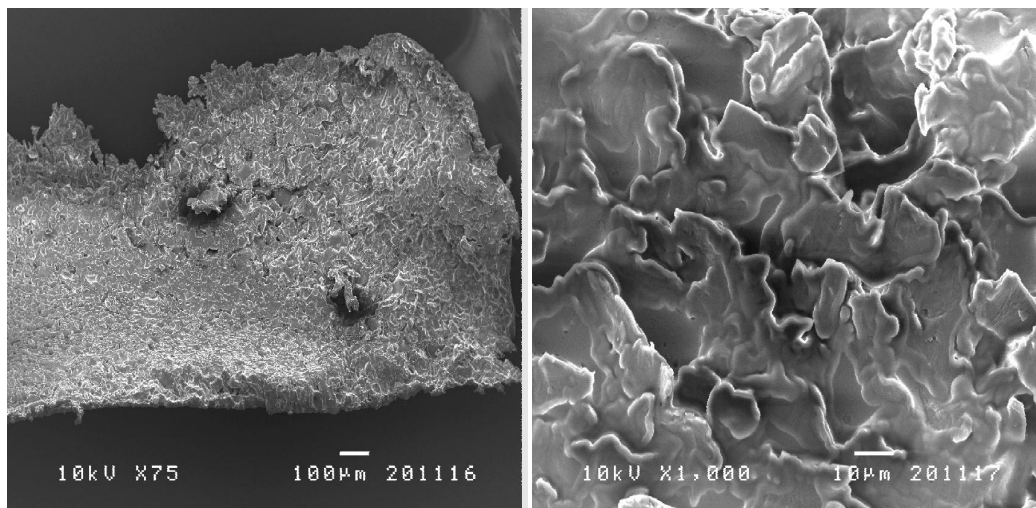


Figura 4.33 - Café verde arábica Timor (ATV).

Análise comparativa de dois cafés arábica do Brasil verdes e torrados

As amostras de café verde apresentam características que poderão evidenciar o aumento de volume após a torra. As figuras 4.34-4.37 dizem respeito a amostras que, após a torra apresentaram um aumento de volume diferente, o que corresponde à dimensão das células verificadas no café verde.

A amostra de café verde com um maior aumento de volume também apresentou células de dimensões superiores.

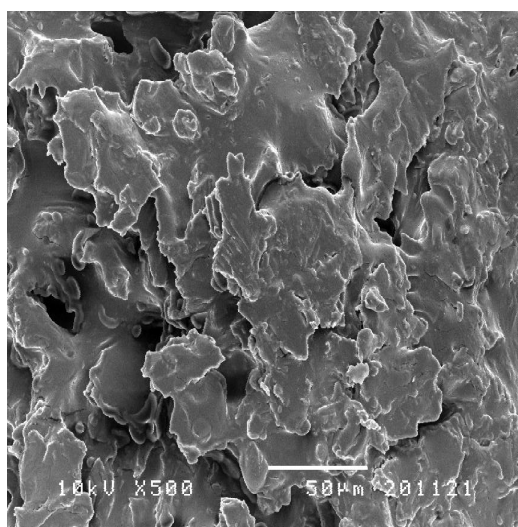


Figura 4.34 - Café verde arábica Brasil (+volume).

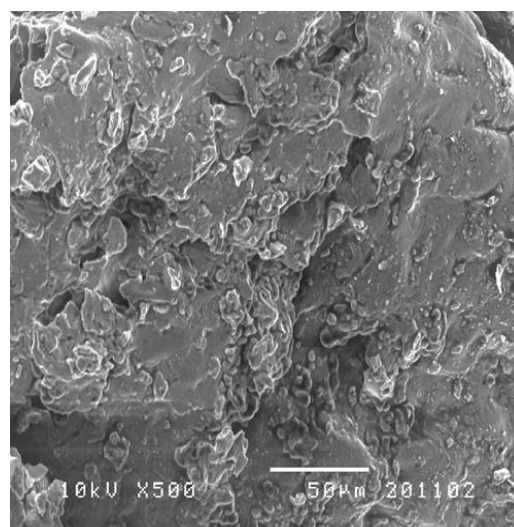


Figura 4.35 - Café verde arábica Brasil (- volume).

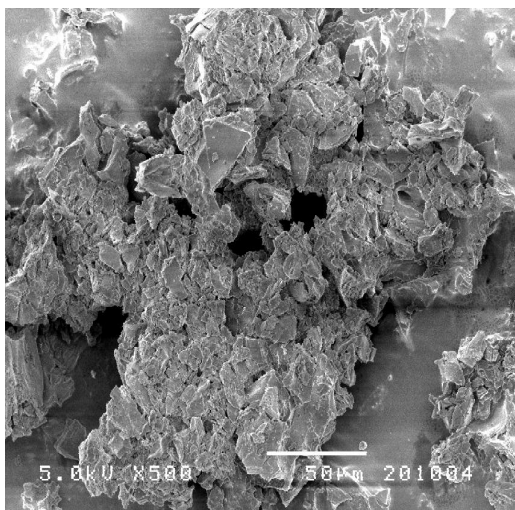


Figura 4.36 - Café arábica Brasil torrado (+ volume).

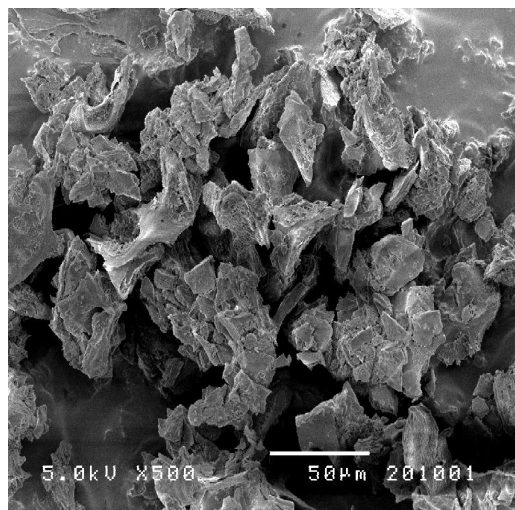


Figura 4.37 - Café arábica Brasil torrado (- volume).

As amostras de café torrado moído caracterizam as partículas de café após torra e moagem. A verificação da morfologia das suas partículas possibilita a detecção de fraudes em café torrado e moído ao qual, é por vezes adicionado cevada, trigo, centeio ou milho torrados. Estes cereais são identificados devido à morfologia discrepante quando comparada com a do café. As partículas de café torrado com um volume superior também apresentam uma área maior.

Caraterização das matérias-primas do *blend* final

A morfologia do café dourado é similar a uma partícula de café verde moído num moinho de martelos (figura 4.38). A amostra referente à partícula de café torrado moído robusta de Angola (RAT) exemplifica uma partícula de café torrado moído encontrada em qualquer embalagem no mercado de 100% café (figura 4.39). A micrografia referente à pele de prata evidencia as micropartículas e a sua estrutura leve e celulósica, caracterizada por uma área superficial de grandes dimensões (figura 4.40). O cacau é caracterizado pelas partículas de dimensões reduzidas e arredondadas (figura 4.41).

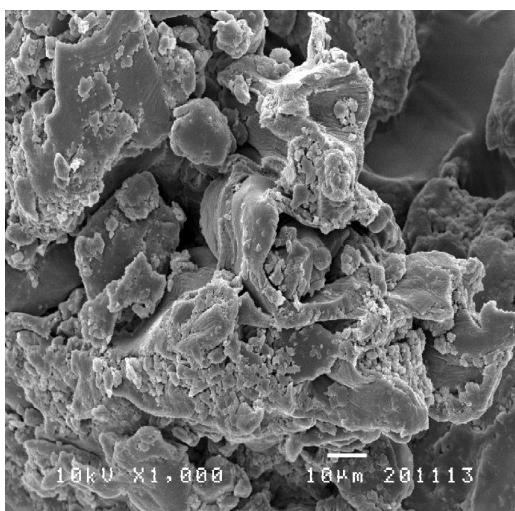


Figura 4.38 - Café dourado.

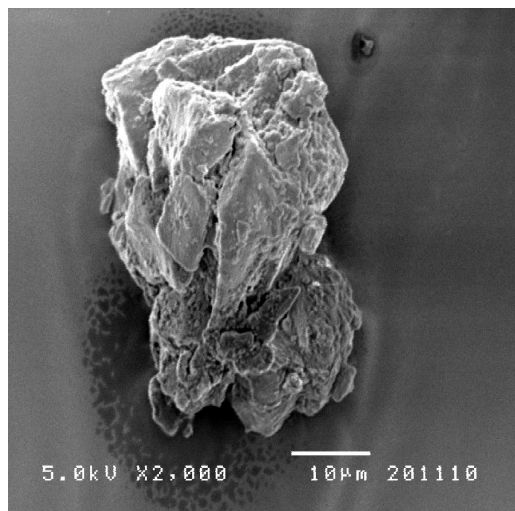


Figura 4.39 - Partícula de café RAT.

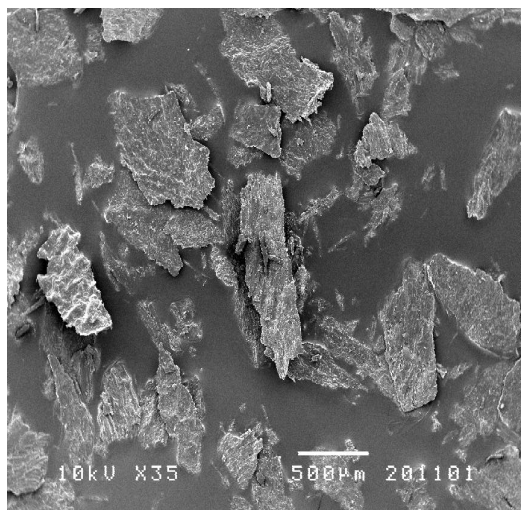


Figura 4.40 - Partículas de pele de prata.

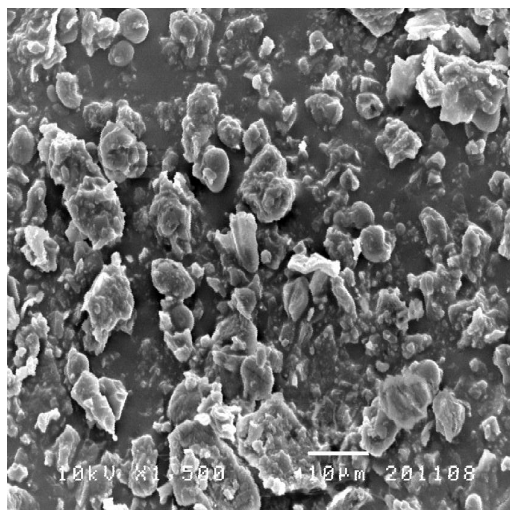


Figura 4.41 - Partículas de cacau.

Blend final

O *blend* final não inclui na sua formulação o café torrado moído tipicamente encontrado no mercado uma vez que as partículas de café dourado, pele de prata e cacau modificam a estrutura característica. De notar que a morfologia arredondada do cacau pode ser confundida com o amido do milho, utilizado em adulterações de café. A figura 4.42 representa as diferentes micropartículas que constituem o *blend* final.

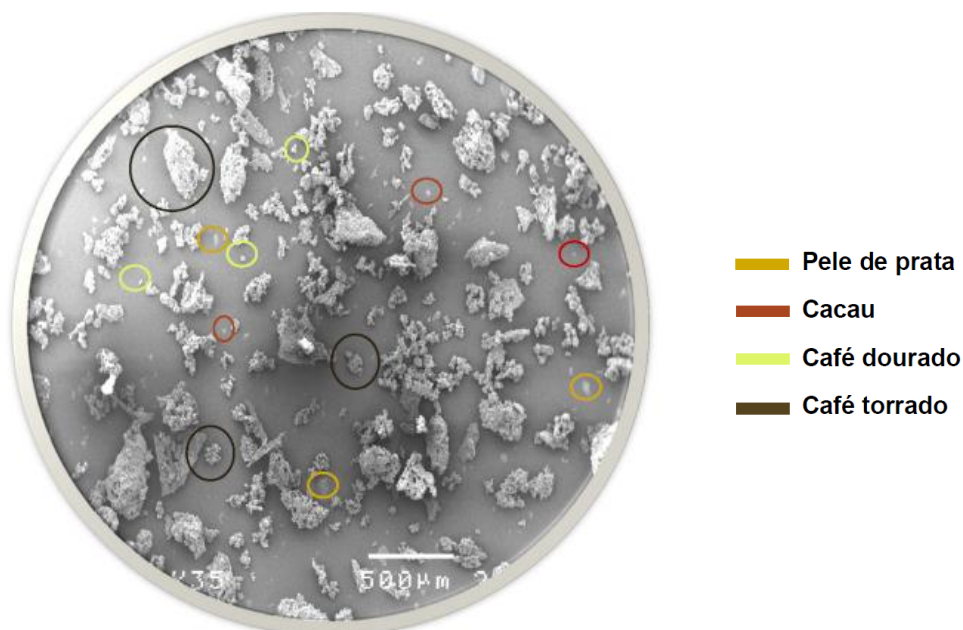


Figura 4.42 - Micrografia do *blend* final BF com as micropartículas referentes às matérias primas que constituem o *blend* (pele de prata, cacau, café dourado e café torrado 70% café robusta e 30% café arábica CTBF).

4.5.15. Ocratoxina A no *blend* final

O *blend* final não apresentou contaminação quantificável nos ensaios realizados (limite de quantificação = 1,9 µg/kg), o que permitiu concluir que o *blend* formulado com torras menos agressivas, com a incorporação de café verde submetido a secagem (café dourado), pele de prata e cacau é um produto inócuo e salubre, cujos teores de ocratoxina A encontram-se muito abaixo do limite legislado para café torrado moído (5 µg/kg) [127].

Num contexto mundial verifica-se que o controlo da ocratoxina A bem como de outras micotoxinas não é eficiente, e que os países produtores de alimentos mais suscetíveis de contaminação são normalmente países pobres cujos recursos existentes para prevenir a contaminação não é o mais desejável. Continuar a fomentar as boas práticas agrícolas, implementar condições de armazenamento e transporte cada vez mais próximo do aceitável são uma realidade ainda longe de se verificar nestes países, mas imprescindível para se poder realizar uma comercialização de produtos cujos teores de ocratoxina A não ultrapassem os limites máximos admissíveis. Tal como num sistema de rastreabilidade é na produção primária que está o foco da contaminação e é daqui que tudo deve partir para que as especiarias, o cacau e o café cheguem às mesas dos consumidores isentos de ocratoxina A.

O desenvolvimento de um método que vise a eliminação de micotoxinas nos alimentos, nomeadamente a ocratoxina A seria uma medida de extrema importância na dieta humana a nível mundial e o mais desejável para resolver este perigo de Saúde Pública que em determinados países tem causado morbilidade, com várias patologias hepáticas e renais associadas, incluindo o cancro.

No que diz respeito à não existência de limite máximo para o teor de cacau considera-se que devido aos teores verificados nos grãos de cacau (0,35 - 14,8 µg/kg) [109], ao elevado consumo mundial, ao facto de fazer parte da alimentação de crianças, ser cultivado maioritariamente em países pobres, onde as condições para desenvolvimento dos fungos e produção de ocratoxina A são as ideais, este deveria ser o próximo produto agroalimentar a ter um limite máximo estabelecido. Por estes motivos e também pela crescente utilização de quantidades superiores de cacau nos chocolates e em outros produtos derivados, como é o caso do *blend* final BF, que visam promover a saúde indicando menções que referem um elevado teor de antioxidantes, é de extrema importância ser vigiado e controlado.

O desenvolvimento de novos produtos alimentares com características funcionais, enriquecidos com fibras e antioxidantes utilizam subprodutos que até à atualidade eram utilizados em adubos ou rações como é o caso da pele de prata do café utilizada no produto formulado. Estes produtos possuem por vezes níveis de ocratoxina A superiores ao admissível para consumo animal e humano [314], visto tratar-se da película que envolve os grãos que vão ser consumidos sob a forma de farinhas ou café torrado e que apresentaram uma possível exposição aos fungos produtores de ocratoxina A. O tratamento destas películas deverá ser muito rigoroso no que diz respeito à garantia de segurança alimentar, pois só assim se poderá obter produtos alimentares cujo benefício ultrapassa o risco. O café verde também está a ser submetido a torras mais claras e até mesmo a ser utilizado sem

processamento de modo a garantir no produto final um maior teor de antioxidantes e por conseguinte mais benefícios para a saúde do consumidor do ponto de vista nutricional. O regulamento não contempla especificidades como esta, nem faz menção para exceções, referindo que “a presença da ocratoxina A já é controlada numa outra fase mais adequada da cadeia de produção”[127] o que para estes casos de torras claras ou inexistência de processamento não há qualquer limite estabelecido.

4.6. Análise multivariada

4.6.1. Cafés torrados de 5 origens diferentes

A análise de componentes principais (CP) foi realizada com o intuito de relacionar os diferentes parâmetros físico-químicos, de modo a obter resultados discriminatórios relativamente às amostras de café torrado dos três continentes (África, América e Ásia), considerando ainda diferentes espécies (*C. arabica* e *C. canephora*) e vias de processamento (via húmida e via seca).

Na tabela 4.63 estão representados os coeficientes de correlação entre as variáveis físico-químicas e as três componentes principais. A primeira componente principal (CP 1) explica 62,94 % da variância, a segunda (CP 2) 21,82 % e a terceira (CP 3) 12,36 %.

Tabela 4.63 - Coeficientes de correlação entre as variáveis iniciais e os dois componentes principais CP).

Variáveis	CP 1	CP 2	CP 3
Massa volúmica compactada	-0,641	-0,421	-0,610
Polifenóis totais	0,956	0,175	0,056
Humidade	0,790	-0,185	0,580
Cor	0,768	-0,352	-0,451
Cafeína	0,882	-0,469	0,033
Trigonelina	-0,989	0,135	0,055
DPPH	0,773	0,547	-0,223
ABTS	0,912	0,356	-0,042
pH	0,710	-0,625	-0,304
Sólidos Solúveis	0,255	0,873	-0,416
Valor Próprio	6,294	2,182	1,236
Variância (%)	62,940	21,820	12,360

As correlações significativas estão assinaladas a cinzento. Abreviaturas: CP1 e CP2 - primeira e segunda componentes principais.

A figura 4.43 apresenta a distribuição das variáveis segundo um plano principal. Todas as variáveis estão bem representadas neste plano, pois encontram-se próximo da circunferência unitária: DPPH, ABTS e polifenóis totais estão fortemente correlacionadas entre si, mas são independentes das variáveis também correlacionadas entre si, humidade, cor, cafeína e pH, as quais, entre a variável trigonelina apresentam uma correlação negativa forte. Quanto à variável massa volúmica compactada apresenta-se isolada não subsistindo uma conclusão definida.

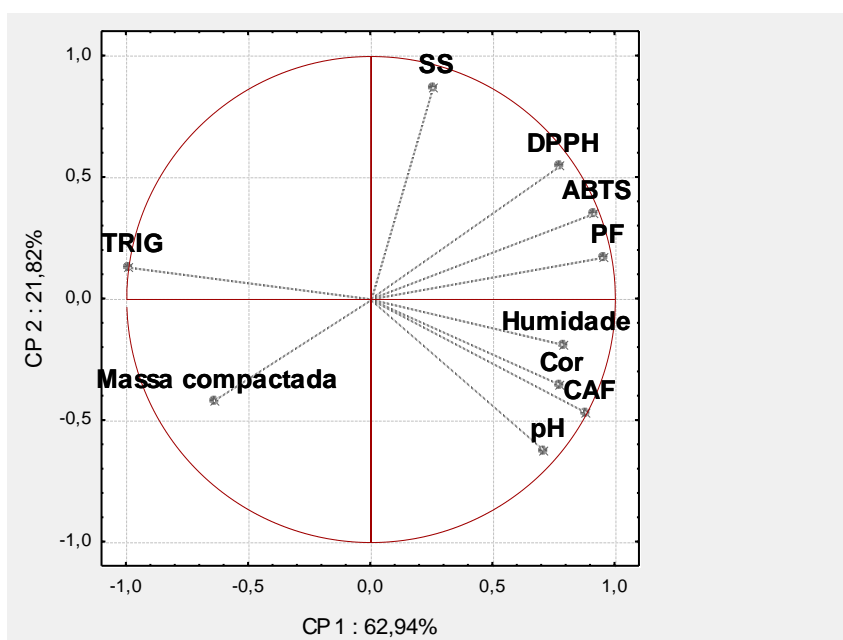


Figura 4.43 - Distribuição das variáveis no plano principal formado pelas 1ª e 2ª componentes principais (CP 1 e CP 2). Abreviaturas: TRIG - trigonelina; CAF - cafeína; PF - polifenóis totais; SS - sólidos solúveis.

A figura 4.44 representa a projeção dos cafés torrados com origens em três continentes num plano principal, formada pelas CP 1 e CP 2. O eixo da CP1 representa a separação dos cafés robusta e arábica, das torras escuras e claras e dos continentes (África em função da América e Ásia). Por sua vez o eixo da CP 2 fornece alguns indícios que poderão eventualmente diferenciar o café arábica dos 2 continentes, Timor (ATT) do continente asiático, dos Honduras (AHT) e Brasil (ABT) do continente americano.

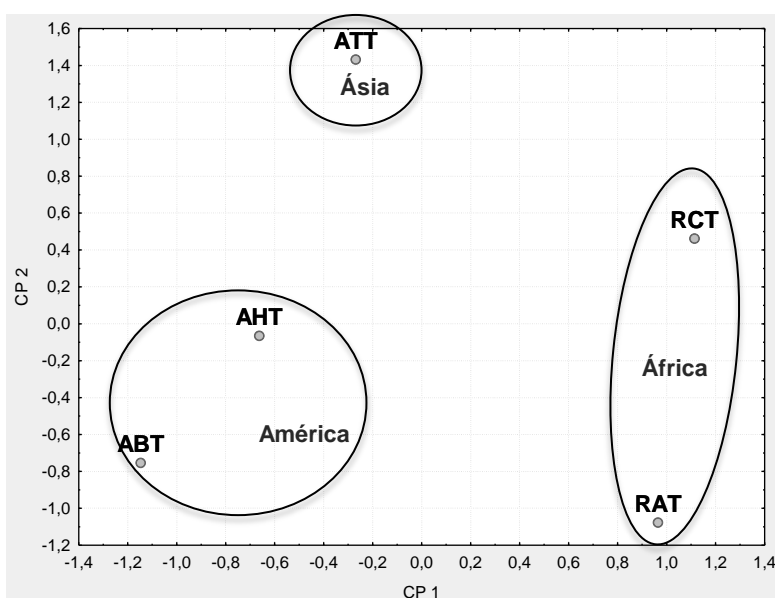


Figura 4.44 - Projeção das amostras de café torrado das diferentes origens. Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil) num plano principal formado pelas 1ª e 2ª componentes principais (CP1 e CP2).

A figura 4.45 apresenta o dendrograma respeitante à distância de ligação entre as diferentes variáveis para as amostras de café torrado estudadas.

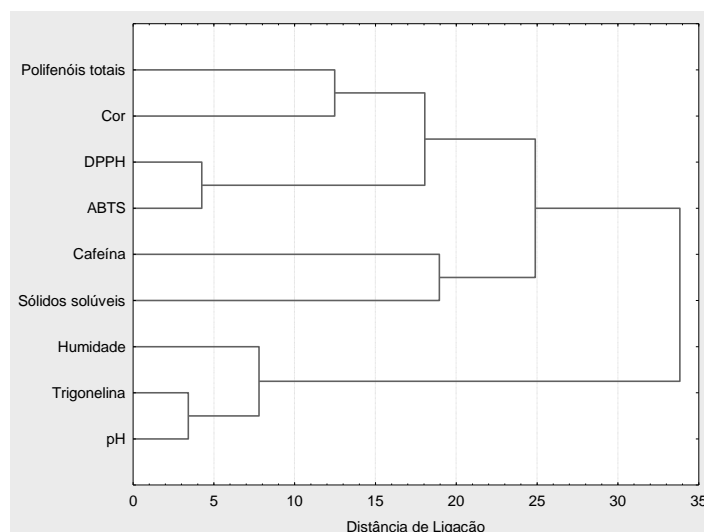


Figura 4.45 - Dendrograma das variáveis: polifenóis totais; cor; DPPH; ABTS; cafeína; sólidos solúveis; humidade; trigonelina; e pH, com base nas distâncias euclidianas entre elas.

A análise dos parâmetros referidos anteriormente sugerem a diferenciação das amostras primeiramente numa distância de ligação superior no que diz respeito à discriminação das espécies, posteriormente como confirmado anteriormente e pela classificação hierárquica os três grupos correspondentes aos três continentes diferenciam as amostras (figura 4.46).

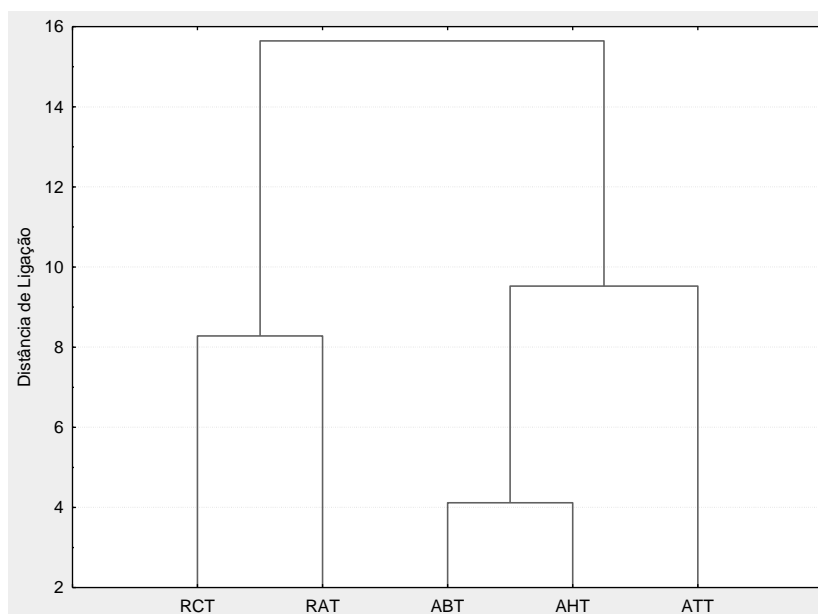


Figura 4.46 - Dendrograma das cinco amostras de grão de café torrado (RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil) considerando 9 parâmetros físico-químicos: polifenóis totais; cor; DPPH; ABTS; cafeína; sólidos solúveis; humidade; trigonelina e pH com base nas distâncias euclidianas entre elas, quando projetadas no plano principal.

Cafés torrados de diferentes origens e *blends* formulados

O *blend* de café torrado Blend 3 (75 % robusta; 25 % arábica) enquadra-se no grupo dos cafés robusta (RCT e RAT) devido à proximidade, o CTBF (café torrado utilizado na formulação do *blend* final BF, constituído por 70% café robusta e 30% café arábica) encontra-se ligeiramente mais afastado enquanto o Blend 2 (50 % robusta; 50 % arábica) é a amostra que se apresenta mais próxima das origens das coordenadas. Por sua vez as amostras de café arábica (ABT, AHT e ATT) e o Blend 1 (75 % arábica; 25 % robusta) diferenciam-se no plano das amostras que contém café robusta na sua composição (figura 4.45). As variáveis trigonelina e cafeína permitiram distinguir eficazmente as diferentes composições de arábica e robusta nos *blends* formulados. Verifica-se uma variância muito significativa em CP 1 (90,64 %) (tabela 4.64).

Tabela 4.64 - Coeficientes de correlação entre as 1^a, 2^a e 3^a componentes principais (CP 1, CP 2 e CP 3) e as variáveis cor, cafeína e trigonelina.

Variáveis	CP 1	CP 2	CP 3
Cor	-0,926	0,377	-0,020
Cafeína	-0,961	-0,210	-0,179
Trigonelina	0,969	0,153	-0,197
Valor próprio	2,719	0,210	0,071
Variância (%)	90,64	6,99	2,37

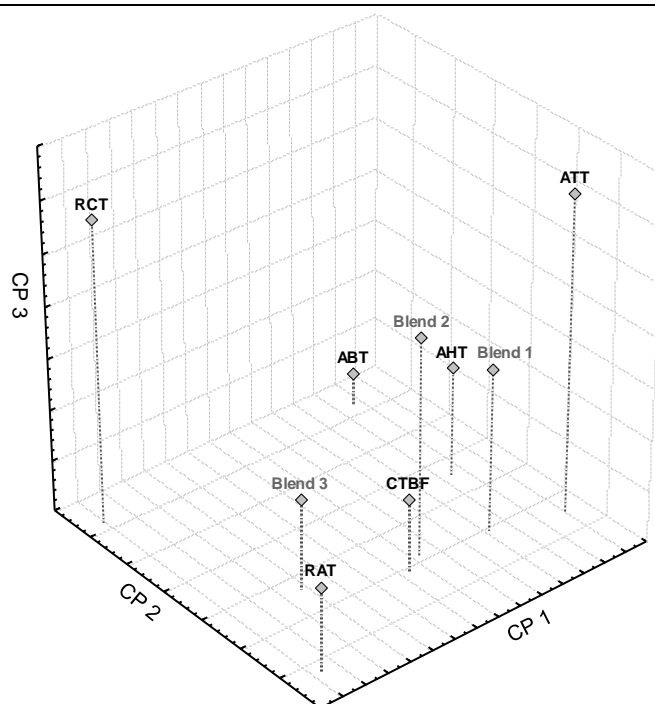


Figura 4.47 - Projeção das amostras de café torrado (nos planos definidos pelas 1^a, 2^a e 3^a componentes principais (CP 1, CP 2 e CP 3). Abreviaturas: RCT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem nos Camarões; RAT - café torrado da espécie *Coffea canephora*, com origem em Angola; AHT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem nas Honduras; ATT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem em Timor; ABT - café torrado da espécie *Coffea arabica*, com origem no Brasil; Blend 1 – *blend* composto por 25 % café robusta e 75 % café arábica; Blend 2 – *blend* composto por 50 % café robusta e 50 % café arábica; Blend 3 – *blend* composto por 75% café robusta e 25% café arábica e CTBF – *blend* de café selecionado para constituir o *blend* final (BF) com 70 % café robusta e 30 % café arábica.

4.6.2. Cafés do mercado

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas efetuadas aos cafés do mercado foram submetidos a uma análise de componentes principais, considerando as variáveis cor, granulometria, capacidade antioxidante determinada pelos métodos ABTS e DPPH, e polifenóis totais. Apresentam-se na tabela 4.65 e na figura 4.48 as componentes principais CP 1, CP 2 e CP 3. As componentes CP 1 e CP 2 explicam 91,6 % da variância entre as diferentes amostras de café do mercado.

Tabela 4.65 - Coeficientes de correlação entre as três primeiras componentes principais (CP 1, CP 2 e CP 3) e as variáveis cor (H^0), granulometria, DPPH, polifenóis totais e ABTS.

Variáveis	CP 1	CP 2	CP 3
Cor	-0,054	0,997	0,060
Granulometria	-0,815	0,071	-0,575
DPPH	-0,986	-0,003	0,147
Polifenóis totais	-0,989	-0,047	0,128
ABTS	-0,977	-0,065	0,197
Valor próprio	3,575	1,005	0,411
Variância (%)	71,50	20,10	8,22

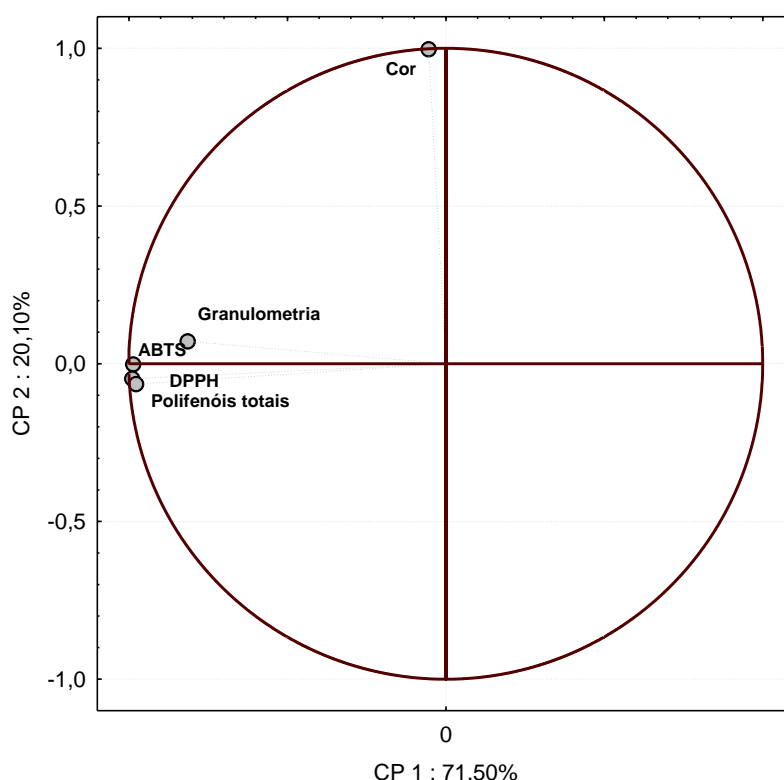


Figura 4.48 - Análise de componentes principais a partir da atividade antioxidante ABTS, DPPH e polifenóis totais, cor (H^0) e granulometria.

A figura 4.49 apresenta o gráfico da CP 1 *versus* CP 2. Neste gráfico distingue-se o café solúvel dos restantes cafés. O eixo da CP1 permitiu diferenciar as amostras no que diz respeito à granulometria, capacidade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH e teor de polifenóis totais. Verificou-se uma clara diferenciação e relação entre as amostras com partículas mais finas e maior atividade antioxidante. Foi verificada uma correlação elevada entre o método de Folin (polifenóis totais) e os métodos DPPH e ABTS. A CP 2 permitiu diferenciar as amostras com uma tonalidade mais escura das amostras com uma tonalidade mais clara. Verifica-se que as amostras de café do mercado QAL, correspondente ao controlo QAL e NV (café enriquecido com vitaminas) se diferenciam claramente no que diz respeito ao parâmetro cor das restantes amostras de café torrado e moído.

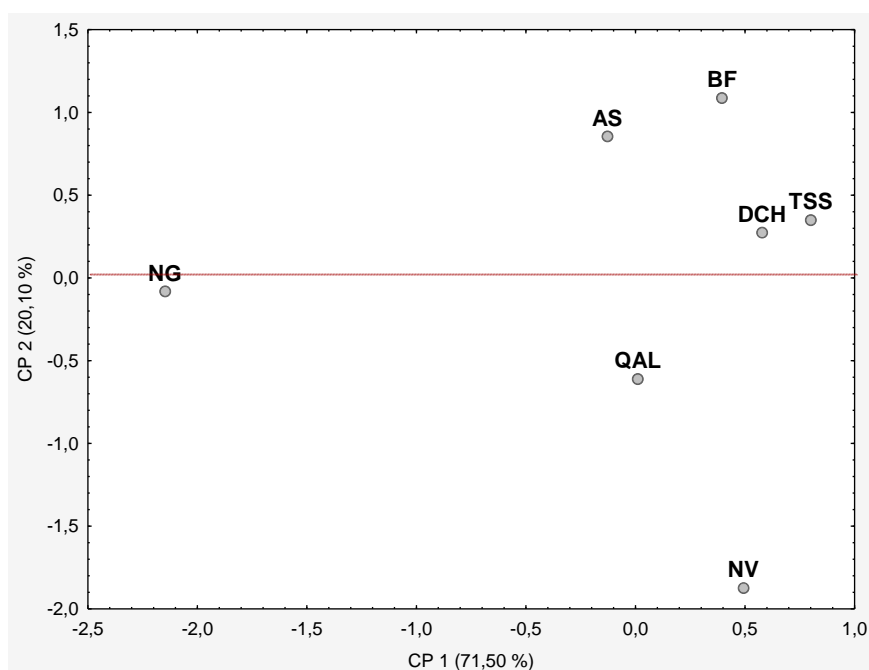


Figura 4.49 - Projeção das amostras descritas pelas variáveis definidas pelas componentes principais CP1 e CP 2. Abreviaturas: AS - café rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina; NV - Café com vitaminas; DCH - café controlo, torrado e moído, para extração nas máquinas de café *Briel* (máquina doméstica fabricada em Portugal) e *La Cimbali* (máquina profissional da restauração fabricada em Itália); BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais; NG - café solúvel, com 65% de café torrado e 35% de café verde; QAL - cápsula controlo de café torrado e torrefato, para extração em máquina *DQOOL* (máquina doméstica de cápsulas fabricada na China para a empresa Novadelta) e TSS - café com pele de prata, acondicionado sob a forma de pastilhas.

A figura 4.50 mostra o dendrograma relativo à similaridade dos cafés do mercado e *blend* final BF segundo as variáveis cor, DPPH, ABTS, polifenóis totais e granulometria. As maiores similaridades são encontradas entre DCH, BF e NV e entre QAL e AS. A similaridade entre AS e QAL também era esperada devido à dimensão reduzida das partículas e à elevada capacidade antioxidante.

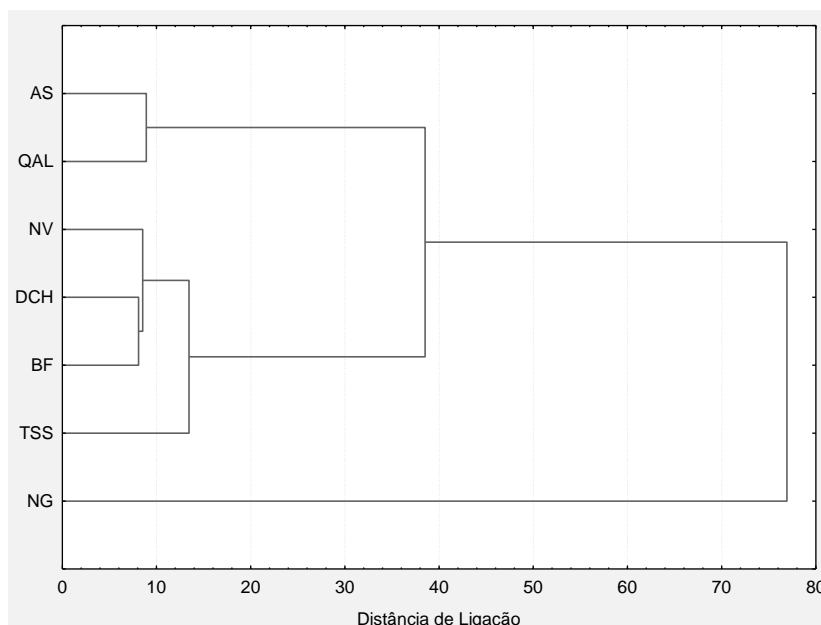


Figura 4.50 - Dendrograma das amostras de cafés do mercado (AS, QAL, NV, DCH, TSS e NG) e o BF com base nas distâncias euclidianas entre elas. Abreviaturas: TSS - café com pele de prata, acondicionado sob a forma de pastilhas; AS - café rico em antioxidantes, com torra clara e moagem fina; NV - café com vitaminas; DCH - café controlo, torrado e moído, para extração nas máquinas de café *Briel* (máquina doméstica fabricada em Portugal) e *La Cimbali* (máquina profissional da restauração fabricada em Itália); QAL - cápsula controlo de café torrado e torrefacto, para extração em máquina *DQOOL* (máquina doméstica de cápsulas fabricada na China para a empresa Novadelta) e BF - *blend* final de café com características potencialmente funcionais.

O *blend* final BF aproxima-se do DCH devido à dimensão das partículas de café torrado ser superior às das amostras QAL e AS. O dendrograma sugere 3 grupos, o do café solúvel (NG), o dos cafés de granulometria mais reduzida (AS e QAL) e os de granulometria mais grossa (NV, DCH, BF e TSS).

4.6.3. *Blend* final versus controlos

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas dos *blends* de café torrado e moído, correspondentes ao *blend* final BF e respetivos controlos DCH e QAL, foram submetidos a uma análise de componentes principais, considerando 16 variáveis: cor, granulometria, fibra insolúvel, matéria gorda total, polifenóis totais, DPPH, ABTS, cafeína, trigonelina, açúcares totais, ácidos clorogénicos, ácidos orgânicos, índice de insaturação (IS), ácidos gordos totais, pH e sólidos solúveis. Verifica-se na tabela 4.66 que as duas primeiras componentes principais (CP 1 e CP 2) explicam 100% da variância total. Verificou-se que as variáveis cor, granulometria, fibra insolúvel, matéria gorda total, polifenóis totais, DPPH, ácidos orgânicos, índice de insaturação, pH e sólidos solúveis estão significativamente correlacionadas com a CP1. Este eixo permite separar o *blend* final BF e o controlo DCH do controlo QAL. ABTS, cafeína, trigonelina e ácidos gordos totais foram identificadas como variáveis da CP2 (figura 4.51) Este eixo representa a separação da formulação correspondente ao *blend* final BF dos controlos DCH e QAL. As variáveis da CP2 apresentam assim uma importância considerável na diferenciação do BF *versus* controlos (figura 4.52).

Tabela 4.66 - Coeficientes de correlação entre as 2 componentes principais CP1 e CP 2 e as variáveis estudadas: cafeína, matéria gorda total, sólidos solúveis, granulometria, polifenóis totais, atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS, açúcares totais, ácidos clorogênicos, trigonelina, ácidos gordos totais, fibra insolúvel, índice de insaturação, cor, ácidos orgânicos e pH.

Variáveis	CP 1	CP 2
Cor	-0,860	-0,510
Granulometria	0,995	0,102
Fibra insolúvel	-0,718	-0,696
Matéria gorda total	0,829	0,559
Polifenóis totais	0,952	-0,307
DPPH	0,747	-0,664
ABTS	0,629	-0,778
Cafeína	-0,056	0,998
Trigonelina	0,004	-1,000
Açúcares totais	0,519	-0,855
Ácidos clorogênicos	0,345	-0,939
Ácidos orgânicos	-0,998	0,060
Índice de insaturação	-0,853	-0,521
Ácidos gordos totais	-0,511	-0,859
pH	-0,748	0,663
Sólidos Solúveis	0,958	0,285
Valor próprio	8,65	7,35
Variância (%)	54,05	45,95

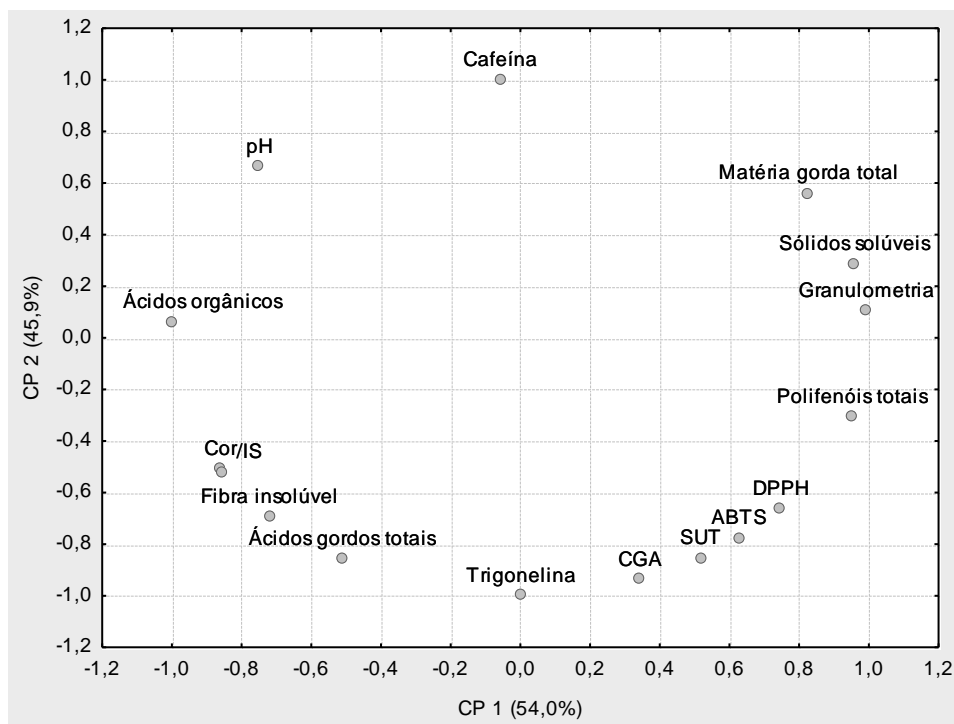


Figura 4.51 - Projeção das variáveis nos planos definidos pelas componentes principais CP 1 e CP 2. As variáveis identificadas no plano são as seguintes: cafeína; matéria gorda total; sólidos solúveis; granulometria; polifenóis totais; atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS; açúcares totais (SUT); ácidos clorogênicos (CGA); trigonelina; ácidos gordos totais; fibra insolúvel; índice de insaturação (IS); cor; ácidos orgânicos e pH.

A figura 4.52 representa a clara distinção entre o *blend* final (BF) e respectivos controles (DCH e QAL).

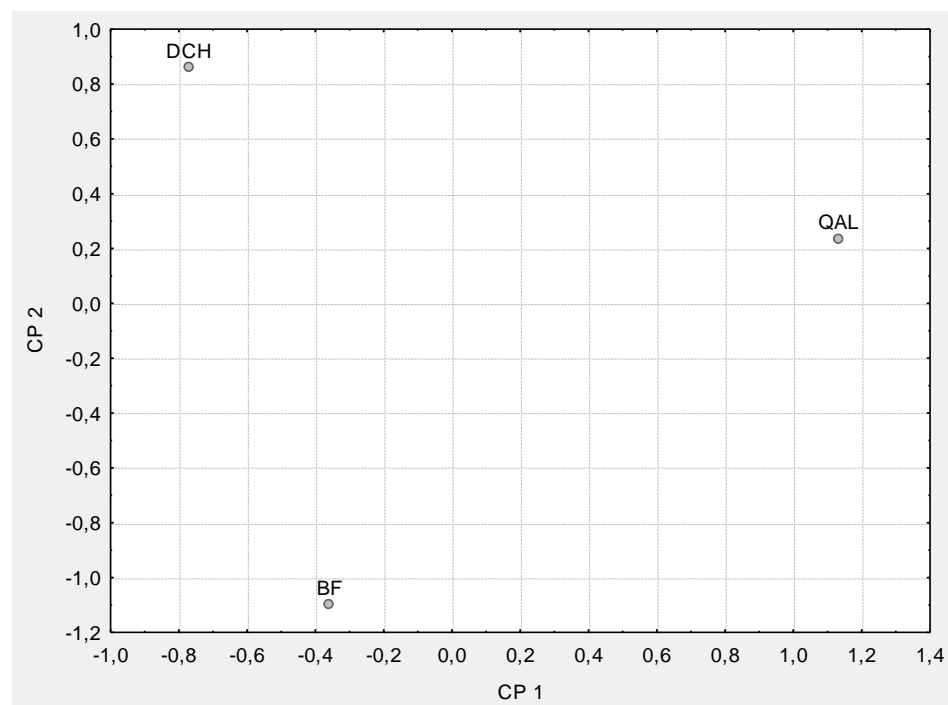


Figura 4.52 - Projeção das amostras correspondentes aos controles DCH e QAL e *blend* final BF, descritas pelas variáveis definidas pelas componentes principais CP 1 e CP 2.

A figura 4.53 apresenta a distância de ligação entre os resultados dos vários parâmetros físico-químicos analisados. A subdivisão em 4 grupos na discriminação das amostras é evidenciada. O

grupo que apresenta uma maior distância de ligação é composto pela granulometria que separa o controlo QAL do controlo DCH e do *blend* final BF, seguidamente verifica-se que a cor, fibra dietética insolúvel, capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS e polifenóis totais encontram-se agrupadas num segundo grupo. O terceiro e quarto grupo apresentam uma distância de ligação inferior entre eles comparativamente aos outros dois grupos. O terceiro grupo é constituído pela cafeína, ácidos orgânicos e sólidos solúveis. O quarto grupo apresenta algumas divisões que constituem três subgrupos que são a matéria gorda total e os ácidos clorogénicos, a trigonelina e o pH, e por fim os ácidos orgânicos e o índice de insaturação (IS).

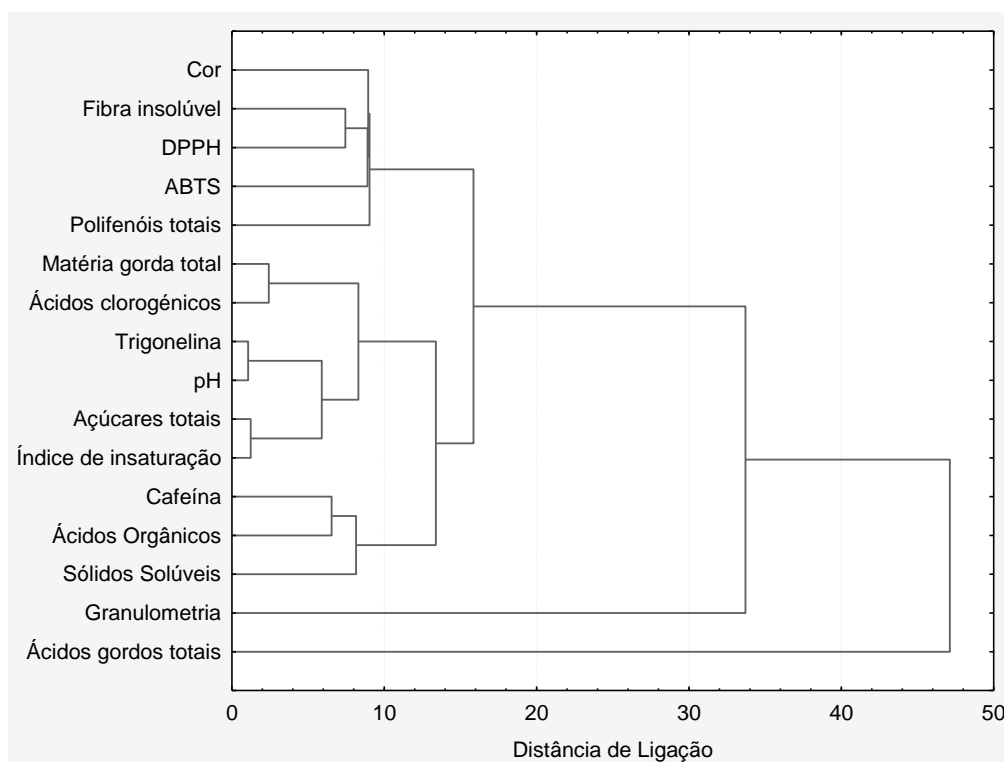


Figura 4.53 - Dendrograma das variáveis (cor, fibra insolúvel, DPPH, ABTS, polifenóis totais, matéria gorda total, ácidos clorogénicos, trigonelina, pH, açúcares totais, índice de insaturação, cafeína, ácidos orgânicos, sólidos solúveis, granulometria e ácidos gordos totais) com base nas distâncias euclidianas entre elas.

A figura 4.54 ilustra a similaridade que existe entre o controlo DCH e o *blend* final BF em detrimento do controlo QAL, nos resultados das análises efetuadas às amostras sólidas para as quinze variáveis cor, fibra dietética insolúvel, DPPH, ABTS, polifenóis totais, matéria gorda total, ácidos clorogénicos totais, trigonelina, pH, açúcares totais, índice de insaturação, cafeína, ácidos orgânicos, sólidos solúveis e granulometria.

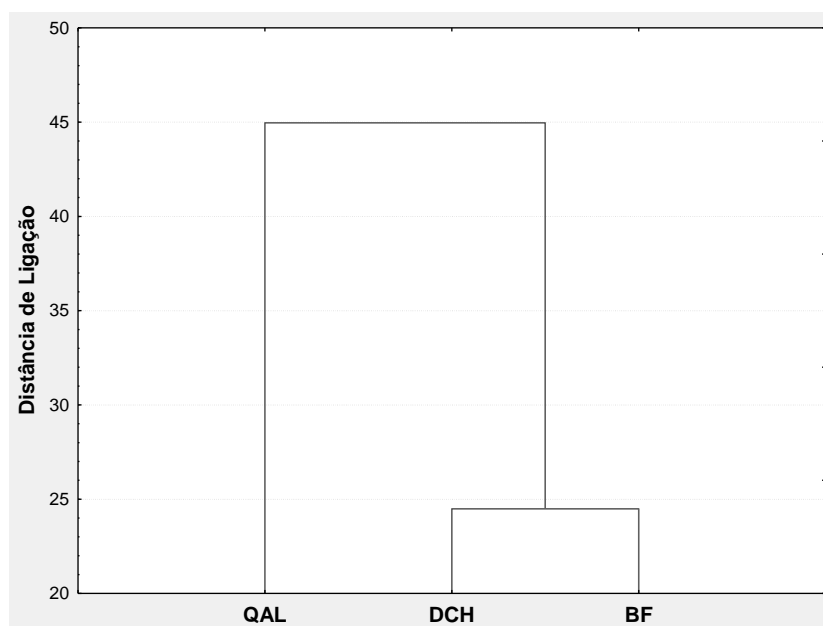


Figura 4.54 - Dendrograma das amostras dos controlos (QAL e DCH) e do *blend* final (BF) com base nas distâncias euclidianas entre elas.

4.6.4. Bebidas de café expresso

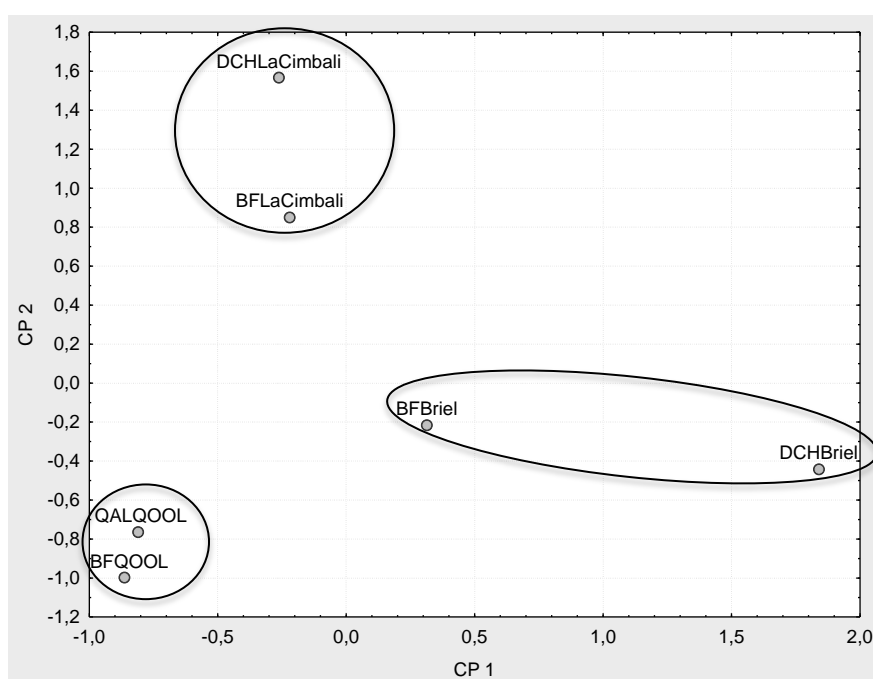
Os resultados correspondentes às análises físico-químicas realizadas às bebidas extraídas pelas máquinas *Briel* e *DQOOL* foram submetidos a uma análise de componentes principais cujas variáveis cafeína, trigonelina, cor, açúcares totais, ácidos orgânicos, ácidos gordos totais, matéria gorda total, pH, sólidos solúveis, polifenóis totais, capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) e ácidos clorogénicos foram consideradas. Na tabela 4.67 pode-se verificar que as duas primeiras componentes principais (CP 1 e CP 2) explicam 91,70 % da variância entre as bebidas. O eixo da CP 1 separou as bebidas extraídas pela máquina *DQOOL* das extraídas pela máquina *Briel*. Verifica-se uma correlação significativa com a CP 1 das variáveis cafeína, trigonelina, cor, açúcares totais, matéria gorda total, pH, sólidos solúveis, polifenóis totais, ABTS, DPPH e ácidos clorogénicos. As variáveis ácidos orgânicos e ácidos gordos totais foram identificadas como variáveis da CP 2.

As variáveis consideradas apresentam na generalidade um forte contributo para discriminar as bebidas extraídas pelas diferentes máquinas. A diferenciação do *blend* final dos controlos é verificada na comparação da bebida extraída por cada máquina, individualmente.

Tabela 4.67 - Coeficientes de correlação entre as 2 componentes principais CP1 e CP 2 e as variáveis estudadas.

Variáveis	CP 1	CP 2	CP 3
Cafeína	-0,840	-0,541	0,037
Trigonelina	-0,925	0,028	0,378
Cor	0,982	0,052	-0,184
Açúcares totais	-0,884	0,017	-0,467
Ácidos orgânicos	-0,599	-0,798	-0,069
Ácidos gordos totais	-0,576	0,803	-0,156
Matéria gorda total	0,883	0,255	0,394
pH	0,799	-0,067	-0,597
Sólidos solúveis	-0,877	0,466	0,120
Polifenóis totais	-0,869	0,375	-0,324
ABTS	-0,995	0,013	-0,099
DPPH	-0,943	0,313	0,111
Ácidos clorogênicos	-0,901	-0,433	0,025
Valor Próprio	9,631	2,291	1,079
Variância (%)	74,08	17,62	8,30

A figura 4.55 representa o gráfico da CP 1 *versus* CP 2. Neste gráfico distingue-se facilmente as extrações efetuadas nas três máquinas *La Cimbali* (DCHLaCimbali e BFLaCimbali), *Briel* (BFBriel e DCHBriel) e *DQOOL* (QALQOOL e BFQOOL) para os parâmetros físico-químicos cor, DPPH, ABTS, polifenóis totais, açúcares totais e ácidos orgânicos.

**Figura 4.55** - Projeção das amostras DCHLaCimbali, BFLaCimbali, DCHBriel, BFBriel, QALQOOL e BFQOOL descritas pelas variáveis definidas pelas componentes principais CP1 e CP 2.

A figura 4.56 representa as diferentes extrações do *blend* final BF e dos respectivos controlos DCH e QAL extraídos pelas máquinas *La Cimbali*, *DQOOL* e *Briel*. O dendrograma identifica claramente as distâncias de ligação que existem para as diferentes máquinas, que revelam a importância que o equipamento tem nos parâmetros físico-químicos cor, DPPH, ABTS, polifenóis totais, açúcares totais e ácidos orgânicos. Verifica-se que a máquina *La Cimbali* devido à pressão superior permitiu uma extração mais eficiente dos componentes do BF promovendo a evidenciada distância de ligação do DCH que por sua vez também se distancia das extrações efetuadas pelas máquinas domésticas (*DQOOL* e *Briel*). A menor distância de ligação é verificada na máquina *Briel* para as amostras DCHBriel e BFBriel.

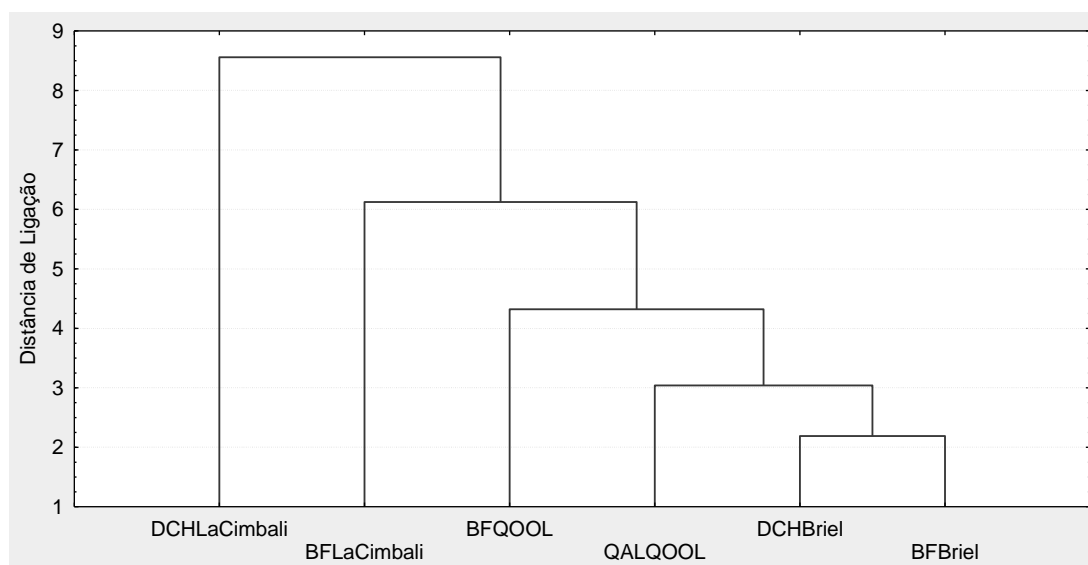


Figura 4.56 - Dendrograma das bebidas de café expresso correspondentes ao *blend* final BF e respectivos controlos DCH e QAL após extração nas máquinas *La Cimbali*, *DQOOL* e *Briel* com base nas distâncias euclidianas entre elas.

5. Conclusão

O consumo doméstico de café em Portugal é atualmente bastante considerável apresentando uma oferta variável para este tipo de produto, tendo sido impulsionado nos últimos anos pelo mercado das cápsulas. O consumidor português é fiel ao café expresso, adquirindo o produto na hotelaria e restauração, nas máquinas de *vending* ou nos supermercados sob os diversos formatos disponíveis, com maior relevância para os cafés torrados moídos acondicionados em embalagens com válvulas desgaseificadoras e cápsulas.

Neste contexto são apresentadas as principais conclusões das diferentes etapas que possibilitaram a formulação do *blend* final.

Controlo de Qualidade dos cafés verdes comerciais

No âmbito deste estudo verificou-se uma maior percentagem de defeitos nas amostras de cafés robusta e nas submetidas a um processamento via seca, o que indica que a qualidade destes cafés é inferior aos cafés arábica via húmida. No entanto estes cafés de qualidade inferior ao serem submetidos à industrialização através de torras diferenciadas, e incorporados na formulação de *blends* beneficiam o produto devido às características químicas que caracterizam a espécie e o processamento. Das amostras estudadas, a que apresentou melhores resultados no controlo de qualidade efetuado foi a do café de Timor (ATV). Nesta, além de uma menor percentagem de defeitos, constatou-se uma maior homogeneidade comercial, permitindo uma torra mais homogénea dos grãos.

Industrialização - Torra

A análise da cor permitiu caracterizar e diferenciar as formulações submetidas a torras mais claras para os cafés robustas, no intuito de preservar mais ácidos clorogénicos e mais escuras para os arábicas, de modo a realçar o sabor dos açúcares caramelizados. As torras apresentaram um aumento de volume superior nos cafés arábica devido à maior intensidade da torra. A massa volúmica compactada apresentou-se heterogénea entre as amostras. A análise multivariada realizada permitiu diferenciar as diferentes espécies, torras e origens dos cafés. Cada origem, espécie apresenta características únicas que são o resultado das práticas agrícolas, clima, solo, altitude, colheita e processamento.

Café dourado

A formulação do café dourado consistiu num processamento mínimo do café verde, permitindo retirar humidade e preservar ácidos clorogénicos e trigonelina. Em termos sensoriais este café é equiparável a um café de torra clara. A adição de uma pequena percentagem (1 %) revelou-se essencial para a aceitação do produto pelos consumidores e provadores. O café dourado é passível de ser adicionado em futuros *blends* sem alterar significativamente as características sensoriais do produto quando a percentagem for equiparável à testada neste trabalho. Esta formulação que na bebida de café expresso está representada por um extrato de café verde apresenta potencial para ser repercutida noutras formulações, acrescentando assim valor aos produtos. Este produto tem um custo

significativamente inferior quando comparado com extratos de antioxidantes artificiais ou naturais adquiridos na indústria.

Pele de prata

A incorporação da pele de prata na composição do produto formulado permitiu valorizar um subproduto tornando-o uma alternativa viável e ecológica. A caracterização desta matéria-prima permitiu verificar o seu valor, mais concretamente o seu elevado teor de fibra, considerável teor de compostos bioativos (caféina e trigonelina), capacidade antioxidante e teor de polifenóis. Desta forma verificou-se que esta matéria-prima, se devidamente selecionada, tratada e manipulada poderá ser incluída na formulação de outros géneros alimentícios como farinhas, massas e produtos de confeitaria e pastelaria por forma a acrescentar-lhes valor e por sua vez contribuir para a saúde e bem-estar do consumidor.

Cacau

O cacau em pó natural, para além de atenuar *off-flavours*, apresenta características funcionais relevantes. A sua introdução aumentou a diversidade de antioxidantes e xantinas (teobromina) à matriz complexa do café e acentuou o sabor doce, contribuindo assim para a redução da adição de açúcar ou adoçantes às bebidas de café expresso resultantes.

***Blend* final**

O *blend* final é constituído por café torrado CTBF (94 %) que por sua vez é constituído por café arábica de torra média (30 %) com origem em Timor, Brasil e Honduras e café robusta torra média clara (70 %), correspondente às origens Angola e Camarões. O *blend* final BF, para além do café torrado tem na sua composição 3 % de cacau, 2 % pele de prata e 1 % de café dourado. As matérias-primas, após homogeneização e moagem padronizada e ajustada ao tipo de *blend*, respeitando as características do produto, consistiram na obtenção de partículas de dimensões variáveis, micropartículas de café dourado, pele de prata e cacau. A moagem equilibrada representou o limite considerado para uma extração otimizada e as suas micropartículas, devido à sua reduzida dimensão, permitiram uma área de contacto com os solventes (água) superior, e, por sua vez, uma biodisponibilidade superior. A moagem é preponderante na extração de sólidos solúveis e, por sua vez, na deteção dos compostos bioativos. As moagens finas permitem extrair mais compostos. No entanto, quando se pretende obter um café expresso perfeito, é essencial uma moagem equilibrada, que atenda às características dos grãos de café e respetivas torras. Neste trabalho específico, para além dos fatores mencionados, acresce a adição de 6 % de ingredientes com características peculiares e suscetíveis de dificultar as extrações das bebidas. Estes *blends*, com ingredientes adicionados apresentam um desafio no acerto das moagens devido à complexidade das partículas e, por conseguinte, na extração do café expresso perfeito. A moagem adaptada correspondeu aos objetivos, possibilitando a extração da bebida em qualquer máquina de café expresso doméstica ou profissional. Por conseguinte, as características sensoriais correspondem à apreciação do consumidor e a extração dos compostos foi garantida, consubstanciando-se um produto criativo a uma fórmula inovadora.

***Blend* final versus controlos**

As características físicas, químicas e sensoriais propiciam a obtenção de bebidas de café expresso de elevada qualidade, otimizadas com um maior teor de compostos bioativos e características peculiares face aos controlos (DCH e QAL). Os controlos foram adquiridos no mercado e representam os cafés mais adquiridos pelo consumidor português, produzidos na Novadelta.

O teor de sólidos solúveis e totais apresentaram um aumento proporcional à dimensão das partículas das amostras. A granulometria das amostras e a pressão das máquinas foram determinantes na extração dos componentes bioativos. Quanto mais reduzidas as partículas, maior o teor de sólidos solúveis das amostras de café torrado moído e, por sua vez, maior o teor de sólidos totais das bebidas de café expresso. A relação entre o teor de sólidos totais e componentes bioativos foi proporcional nas bebidas.

O *blend* final BF apresentou, quando comparado com os controlos DCH e QAL um menor teor de matéria gorda total mas um teor de ácidos gordos totais e índice de insaturação superior nos cafés torrados e moídos. As bebidas extraídas apresentaram variações entre as máquinas. A extração pela máquina *Briel*, relativamente à DQOOL (cápsulas), extraiu um maior teor de matéria gorda total e ácidos gordos totais, uma vez que o filtro da cápsula retém parte dos compostos insolúveis em água.

Constatou-se que uma moagem mais fina e uma torra mais clara favorecem o aumento dos polifenóis totais. A capacidade antioxidante foi potenciada por um maior teor de café robusta (contém mais cafeína e CGA) submetido a uma torra média-clara (para proteger os compostos fenólicos) em detrimento de torras mais escuras. O café arábica foi submetido a uma torra média onde o equilíbrio entre a degradação dos compostos fenólicos e a formação de melanoidinas foi considerado. O café dourado apresentou-se como uma fonte extremamente rica em polifenóis que no produto compensou o baixo teor existente na pele de prata. No que diz respeito à quantidade de antioxidantes, independentemente da origem e processamento, verificou-se uma variabilidade razoável em todas as amostras analisadas. No entanto os cafés com moagem mais fina (controlo QAL e café do mercado AS) foram os que apresentaram um maior capacidade antioxidante.

Comparativamente aos controlos, as bebidas de café expresso extraídas do *blend* final BF apresentaram um teor superior dos compostos bioativos cafeína, trigonelina, teobromina e ácidos clorogénicos. A máquina DQOOL extraiu mais compostos bioativos do que a *Briel*.

A junção do café com o cacau foi em termos sensoriais a melhor combinação conseguida, com um impacto positivo junto dos consumidores em detrimento de outros ingredientes como o gengibre, alho, cardamomo e alecrim. O conjunto diversificado de testes realizados (ensaio preliminares de aprovação de *flavours*, provas hedónicas e análise descritiva quantitativa) permitiu ultimar a formulação final do *blend* final, que foi validado pelos provadores e cuja aceitabilidade foi confirmada pelos consumidores. A aceitabilidade é considerada um indicador positivo para a implementação do *blend* final no mercado e futura comercialização.

O *blend* final, ao ser adaptado para cápsulas e ter sido estudado em três tipos de extração com máquinas domésticas (*Briel* e *DQOOL*) e profissional (*La Cimbali*), configura uma formulação que apresenta um maior e mais diversificado teor de compostos bioativos que poderão ter um impacto na saúde pública superior, devido ao hábito de consumo de café expresso pela população portuguesa e pelas diferentes adaptações aos segmentos de mercado e futuras tendências.

A fórmula inovadora, competitiva, sustentável, economicamente viável e com potencial de marketing é o resultado de um sistema complexo, enquadrado em vários parâmetros que permitiram desvendar as etapas cruciais, resoluções e alternativas para os problemas que advêm da formulação de um *blend* de café para um expresso característico.

As perspetivas futuras focalizam-se no desenvolvimento de novos *blends*, partindo do conceito investigado, desenvolvido e aplicado na investigação efetuada bem como no estudo *in vivo* do *blend* final.

Futuras formulações de café com outros ingredientes terão de ser devidamente avaliadas através de estudos de mercado nacionais uma vez que o mercado português inserido no correspondente aos países mediterrânicos (sul da Europa), apresenta na atualidade preferência por produtos constituídos por ingredientes naturais e/ou sem adição de artificiais.

A incorporação de *blends* com soja, cevada ou chicória poderão ir ao encontro das necessidades do consumidor, rentabilizar custos, acrescentar valor, contribuir para a sustentabilidade do país e responder às necessidades do mercado.

6. Bibliografia

As referências bibliográficas foram apresentadas nos moldes adotados internacionalmente, com base no modelo seguido pelo *Nutrition Journal*, respeitando a área científica em que se inclui a presente dissertação. O acesso às referências bibliográficas foi realizado no período correspondente a 06/2010 - 12/2011.

1. Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF, Sinderen DV: **Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites**. *Current Opinion in Biotechnology* 2005, **16**(2):198-203.
2. Burdock GA, Carabin IG, Griffiths JC: **The importance of GRAS to the functional food and nutraceutical industries**. *Toxicology* 2006, **221**(1):17-27.
3. EIS Report: **The Innovation Union's performance scoreboard for Research and Innovation**. Edited by Scoreboard IU; 2010.
4. Betoret E, Betoret N, Vidal D, Fito P: **Functional foods development: Trends and technologies**. *Trends in Food Science and Technology* 2011, **22**(9):498-508.
5. Granato D, Branco GF, Nazzaro F, Cruz AG, Faria JAF: **Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products**. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2010, **9**(3):292-302.
6. Menrad K: **Market and marketing of functional food in Europe**. *Journal of Food Engineering* 2003, **56**(2-3):181-188.
7. Makinen-Aakula M: **Trends in functional foods dairy market**. In: *Proceedings of the third functional food net meeting*. 2006.
8. Monár J: **The Spanish functional food market: Present and future perspectives**. In: *Functional FoodNet (FFNet) network meeting, IATA-CSIC*. 2007.
9. van Trijp HC: **Consumer understanding and nutritional communication: key issues in the context of the new EU legislation**. *Eur J Nutr* 2009, **48** Suppl 1:S41-48.
10. Kotilainen L, Rajalahti R, Ragasa C, Pehu E: **Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries**. In: *Agriculture and Rural Development Discussion*. Washington; 2006: 82.
11. Bech-Larsen T, Scholderer J: **Functional foods in Europe: consumer research, market experiences and regulatory aspects**. *Trends in Food Science and Technology* 2007, **18**(4):231-234.
12. ICO: **Relatório Mensal do Mercado Cafeeiro**. In. Edited by Organization IC; 2011.
13. **Data for calendar year commencing: 2009** [<http://www.ico.org/countries/portugal.pdf>]
14. **Country data sheets 2009** [http://dev.ico.org/profiles_e.asp]
15. **Balança Alimentar Portuguesa 2003 - 2008**
[http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaquas&DESTAQUESdest_boui=83386467&DESTAQUESmodo=2]
16. **Indústria e Energia em Portugal 2008 - 2009** [http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=120933113&PUBLICACOESmodo=2]

17. Smith RF: **A history of coffee**. In: *Coffee, botany, biochemistry and production of beans and beverage*. Edited by Clifford MN, Wilson KC. New York: Croom Helm e Methuen Inc; 1987: 1-12.
18. Silva ME: **O café: Estudo sobre os efeitos fisiológicos e tóxicos do café**. Porto; 1900.
19. Anthony F, Diniz L, Combes M-C, Lashermes P: **Adaptive radiation in Coffea subgenus Coffea L. (Rubiaceae) in Africa and Madagascar**. *Plant Systematics and Evolution* 2010, **285**(1):51-64.
20. **The Story Of Coffee** [http://www.ico.org/coffee_story.asp]
21. Conagin CHTM, Mendes AJT: **Pesquisas citológicas e genéticas em três espécies de Coffea; auto-incompatibilidade em Coffea canephora**. In: *Bragantia*. vol. 20; 1961.
22. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P: **Food chemistry**, 4 edn: Heidelberg: Springer (Chapter 21). 2009.
23. Berbert PA, Queiroz DM, Sousa EF, Molina MB, Melo EC, Faroni LRD: **PH—Postharvest Technology: Dielectric Properties of Parchment Coffee**. *Journal of Agricultural Engineering Research* 2001, **80**(1):65-80.
24. Esquivel P, Jiménez VM: **Functional properties of coffee and coffee by-products**. *Food Research International* 2011, **in press**.
25. Malta MR, Chagas SJR, Chaulfon SM: **Colheita e pós-colheita do café: recomendações e coeficientes técnicos**. In: *Informe Agropecuário*. vol. 29; 2008: 83-94.
26. Castro MFP, Schimidt FL, Leitão MFF: **Boas práticas agrícolas e aplicação do sistema APPCC no cultivo e processamento industrial do café pela via seca**. In: *Higiene alimentar*. vol. 16. São Paulo; 2002: 29-42.
27. Ricci M, Neves M, Nanneti A: **Cultivo do café orgânico**. In: *Embrapa Agrobiologia*. Sistemas de produção; 2006.
28. Bórem FM: **Pós-Colheita do Café**: Editora UFLA; 2008.
29. Vincent JC: **Green coffee processing**, vol. 2. London and New York: Elsevier Applied Science; 1987.
30. Clarke RJ: **The technology of converting green coffee into beverage**. Nova Iorque: Croom Helm e Methuen Inc; 1987.
31. Lima MV, Vieira HD, Martins MLL, Pereira S: **Preparo do café despulpado, cereja descascado e natural na região sudoeste da Bahia**. In: *Revista Ceres*. vol. 55. Viçosa; 2008: 124-130.
32. Clarke RJ: **Green coffee**. London: Caballero, B., Trugo, L., Fingias, P; 2003.
33. Cardoso APS: **Café - Cultura e Tecnologia Primária**. Lisboa: IICT; 1994.
34. Correia MNG: **Manual da tecnologia do café**. Porto; 1995.
35. EMBRAPA: **Manual de segurança e qualidade para a cultura do café**. Brasília: Projecto PAS Campo Brasília; 2004.
36. Correia MNG: **Influência da torra na evolução dos ácidos clorogênicos do café**. *Dissertação de doutoramento*. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia; 1990.
37. Coradi PC, Borém FM, Oliveira JA: **Qualidade do café natural e despulpado após diferentes tipos de secagem e armazenamento**. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 2008, **12**:181-188.

38. Pay E: **The market for organic and fair trade coffee. Increasing incomes and food security of small farmers in West and Central Africa through exports of organic and fair-trade tropical products.** In: Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2009: 1-19.
39. Fabbri A, Cevoli C, Alessandrini L, Romani S: **Numerical modeling of heat and mass transfer during coffee roasting process.** *Journal of Food Engineering* 2011, **105**(2):264-269.
40. Sacchetti G, Mattia CD, Pittia P, Mastrocola D: **Erratum to “Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction” [J. Food Eng. 90 (2009) 74–80].** *Journal of Food Engineering* 2009, **91**(2):372.
41. Araújo JMA: **Química de Alimentos: Teoria e Prática.** 2ª ed. Viçosa. UFV. Viçosa: UFV; 2001.
42. Strezov V, Evans TJ: **Thermal Analysis of the Reactions and Kinetics of Green Coffee During Roasting.** *International Journal of Food Properties* 2005, **8**(1):101-111.
43. Pittia P, Romani S: **Coffee Processing.** In: *Food Processing.* Edited by Otles KKS, vol. 7: Springer; 2010.
44. Borrelli RC, Visconti A, Mennella C, Anese M, Fogliano V: **Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins.** *J Agric Food Chem* 2002, **50**(22):6527-6533.
45. Sánchez-González I, Jiménez-Escrig A, Saura-Calixto F: **In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter).** *Food Chemistry* 2005, **90**(1-2):133-139.
46. Richelle M, Tavazzi I, Offord E: **Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving.** *J Agric Food Chem* 2001, **49**(7):3438-3442.
47. del Castillo MD, Ames JM, Gordon MH: **Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews.** *J Agric Food Chem* 2002, **50**(13):3698-3703.
48. Moon JK, Yoo HS, Shibamoto T: **Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: correlation with coffee acidity.** *J Agric Food Chem* 2009, **57**(12):5365-5369.
49. López-Galilea I, Andueza S, Leonardo Id, Paz de Peña M, Cid C: **Influence of torrefacto roast on antioxidant and pro-oxidant activity of coffee.** *Food Chemistry* 2006, **94**(1):75-80.
50. NP 1535: **Café Terminologia.** Edited by IPQ; 1977: 6.
51. Silva EAA: **Coffee (Coffea arabica cv. Rubi) seed germination: mechanism and regulation.** Wageningen: Wageningen Universiteit; 2002.
52. Clifford MN: **Chemical and physical aspects of green coffee products.** In: *Coffee, botany, biochemistry and production of beans and beverage.* New York: Croom Helm e Methuen Inc; 1987: 305-374.
53. Joët T, Laffargue A, Descroix F, Doubeau S, Bertrand B, Kochko Ad, Dussert S: **Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans.** *Food Chemistry* 2010, **118**(3):693-701.
54. Carvalho VD, Chagas SJR, Chalfoun SM: **Fatores que afetam a qualidade do café.** In: *Informe Agropecuário.* vol. 18; 1997: 5-20.
55. Chanakya HN, De Alwis AAP: **Environmental Issues and Management in Primary Coffee Processing.** *Process Safety and Environmental Protection* 2004, **82**(4):291-300.

56. Ramalakshmi K, Raghavan B: **Caffeine in Coffee: Its Removal. Why and How?** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1999, **39**(5):441-456.
57. Leloup V, Cancel C, Liardon R, Rytz A, Pithon A: **Impact of wet and dry process on green composition and sensory characteristics.** In: *ASIC proceedings of 20th colloque coffee: 2004; Bangalore*; 2004: 93-100.
58. Ximenes MA: **A Tecnologia Pós - Colheita e Qualidade Física e Organoléptica do Café Arábica de Timor.** Lisboa: Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa; 2010.
59. Choi MY, Choi W, Park JH, Lim J, Kwona SW: **Determination of coffee origins by integrated metabolomic approach of combining multiple analytical data.** In: *Food Chemistry*. 2010.
60. Farah A, Monteiro MC, Calado V, Franca AS, Trugo LC: **Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee.** *Food Chemistry* 2006, **98**(2):373-380.
61. Oosterveld A, Harmsen JS, Voragen AGJ, Schols HA: **Extraction and characterization of polysaccharides from green and roasted Coffea arabica beans.** *Carbohydrate Polymers* 2003, **52**(3):285-296.
62. Hu Q, Zhou T, Zhang L, Fang Y: **Study of the separation and determination of monosaccharides in soluble coffee by capillary zone electrophoresis with electrochemical detection.** *Analyst* 2001, **126**(3):298-301.
63. Arya M, Rao LJ: **An impression of coffee carbohydrates.** *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007, **47**(1):51-67.
64. Andrade LMCO: **Otimização de técnicas de cultura de tecidos para o cafeeiro (Coffea arabica).** Lavras: Universidade Federal de Lavras; 1998.
65. Tango JS: **Utilização industrial do café e dos seus subprodutos** In: *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*. São Paulo: Instituto de Tecnologia de Alimentos 1971.
66. Clifford MN: **Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products.** In: *Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage*. Edited by Clifford MN, Willson, K.C., vol. 13. Westport Connecticut: Avi Publishing; 1985.
67. Kurzrock T, Speer K: **Identification of kahweol fatty acid esters in Arabica coffee by means of LC/MS.** *Journal of Separation Science* 2001, **24**(10-11):843-848.
68. Gonzalez AG, Pablos F, Martn MJ, Leon-Camacho M, Valdenebro MS: **HPLC analysis of tocopherols and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters.** *Food Chemistry* 2001, **73**(1):93-101.
69. Speer K, Kölling-Speer I: **The lipid fraction of the coffee bean.** *Brazilian Journal of Plant Physiology* 2006, **18**:201-216.
70. Folstar P: **Lipids**, vol. 1. London: Elsevier Applied Science.; 1985.
71. Oliveira LS, Franca AS, Mendonça JCF, Barros-Júnior MC: **Proximate composition and fatty acids profile of green and roasted defective coffee beans.** *LWT - Food Science and Technology* 2006, **39**(3):235-239.
72. Dussert S, Laffargue A, Kochko Ad, Joët T: **Effectiveness of the fatty acid and sterol composition of seeds for the chemotaxonomy of Coffea subgenus Coffea.** *Phytochemistry* 2008, **69**(17):2950-2960.
73. Wagemaker TAL, Carvalho CRL, Maia NB, Baggio SR, Guerreiro Filho O: **Sun protection factor, content and composition of lipid fraction of green coffee beans.** *Industrial Crops and Products* 2011, **33**(2):469-473.

74. Morgano MA, Pauluci LF, Mantovani DMB, Mory EEM: **Determinação de minerais em café cru.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2002, **22**:19-23.
75. Hostettmann K, Marston A, Ndjoko K, Wolfender JL: **The Potential of African Plants as a Source of Drugs.** *Current Organic Chemistry* 2000, **4**(10):973-1010.
76. Kiyohara C, Kono S, Honjo S, Todoroki I, Sakurai Y, Nishiwaki M, Hamada H, Nishikawa H, Koga H, Ogawa S *et al.* **Inverse association between coffee drinking and serum uric acid concentrations in middle-aged Japanese males.** *British Journal of Nutrition* 1999, **82**:125-130.
77. Mazzafera P, Silvarolla MB: **Caffeine content variation in single green Arabica coffee seeds.** *Seed Science Research* 2010, **20**:163-167.
78. Farah A, Donangelo C: **Phenolic compounds in coffee.** *Braz J Plant Physiol* 2006, **18**.
79. Clifford MN, Johnston KL, Knight S, Kuhnert N: **Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids.** *J Agric Food Chem* 2003, **51**(10):2900-2911.
80. Clifford MN, Knight S: **The cinnamoyl-amino acid conjugates of green robusta coffee beans.** *Food Chemistry* 2004, **87**(3):457-463.
81. Arts IC, van De Putte B, Hollman PC: **Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk.** *J Agric Food Chem* 2000, **48**(5):1752-1757.
82. Agresti PDCM, Franca AS, Oliveira L.S., Augusti R: **Discrimination between defective and non-defective Brazilian coffee beans by their volatile profile.** In: *Food Chemistry* vol. 106; 2008: 787-796.
83. Buffo RA, Cardelli-Freire C: **Coffee flavour: an overview.** *Flavour and Fragrance Journal* 2004, **19**(2):99-104.
84. Oliveira ALd, Cruz PM, Eberlin MN, Cabral FA: **Brazilian roasted coffee oil obtained by mechanical expelling: compositional analysis by GC-MS.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2005, **25**:677-682.
85. Sato Y, Itagaki S, Kurokawa T, Ogura J, Kobayashi M, Hirano T, Sugawara M, Iseki K: **In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid.** *International Journal of Pharmaceutics* 2011, **403**(1-2):136-138.
86. Verzelloni E, Pellacani C, Tagliazucchi D, Tagliaferri S, Calani L, Costa LG, Brighenti F, Borges G, Crozier A, Conte A *et al.* **Antiglycative and neuroprotective activity of colon-derived polyphenol catabolites.** *Molecular Nutrition & Food Research* 2011, **55**(S1):S35-S43.
87. Ginz M, Engelhardt UH: **Analysis of bitter fractions of roasted coffee by LC/ESI/MS; new chlorogenic acid derivatives.** *Colloq Sci Int Cafe* 2001, **19th**:248-252.
88. Delgado-Andrade C, Morales FJ: **Unraveling the Contribution of Melanoidins to the Antioxidant Activity of Coffee Brews.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, **53**(5):1403-1407.
89. Silvan JM, Morales FJ, Saura-Calixto F: **Conceptual Study on Maillardized Dietary Fiber in Coffee.** *J Agric Food Chem* 2010.
90. Singaravel S: **Chapter 34 - Cardamom (Elettaria cardamomum Linn. Maton) Seeds in Health.** In: *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. San Diego: Academic Press; 2011: 285-291.
91. SEBRAE: **Café gourmet e orgânico.** In: *Estudos de Mercado Sebrae/ESPM*. Edited by Sebrae: SEBRAE; 2008: 186.
92. Navarini L, Rivetti D: **Water quality for Espresso coffee.** *Food Chemistry* 2010, **122**(2):424-428.

93. Albanese D, Di Matteo, M., Poiana, M., Spagnamusso, S: **Espresso coffee (EC) by POD: Study of thermal profile during extraction process and influence of water temperature on chemical–physical and sensorial properties.** *Food Research International* 2009, **42**.
94. Andueza S, de Peña MP, Cid C: **Chemical and Sensorial Characteristics of Espresso Coffee As Affected by Grinding and Torrefacto Roast.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003, **51**(24):7034-7039.
95. Petracco M: **Percolation.** In: *Espresso Coffee: The chemistry of quality.* Edited by Viani AIR. London: Academic Press; 2005: 398.
96. Nunes FM, Coimbra MA, Duarte AC, Delgadillo I: **Foamability, Foam Stability, and Chemical Composition of Espresso Coffee As Affected by the Degree of Roast.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997, **45**(8):3238-3243.
97. Petracco M, Navarini, L, Abatangelo, A, Gombac, V, D'Agnolo, E, Zanetti, F: **Isolation and characterization of a foaming fraction from hot water extracts of roasted coffee.** In: *Colloque Scientifique International sur le Cafe: 1999*; 1999: 95-105.
98. Albanese D, Di Matteo M, Poiana M, Spagnamusso S: **Espresso coffee (EC) by POD: Study of thermal profile during extraction process and influence of water temperature on chemical–physical and sensorial properties.** *Food Research International* 2009, **42**(5-6):727-732.
99. Illy E, Navarini L: **Neglected Food Bubbles: The Espresso Coffee Foam.** *Food Biophysics* 2011, **6**(3):335-348.
100. Grazyna B, Ewa N: **Antioxidant Properties of Arabica and Robusta Coffee Extracts Prepared under Different Conditions.** *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 2008, **104**(2):69-78.
101. Rodríguez J, Durán C, Reyes A: **Electronic Nose for Quality Control of Colombian Coffee through the Detection of Defects in “Cup Tests”.** *Sensors* 2009, **10**(1):36-46.
102. Chaves JBP, Sproesser RL: **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas.** Edited by Universitária I. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 1996: 81.
103. Steyn PS: **Mycotoxins, general view, chemistry and structure.** *Toxicol Lett* 1995, **82-83**:843-851.
104. van der Merwe KJ, Steyn PS, Fourie L, Scott DB, Theron JJ: **Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by Aspergillus ochraceus Wilh.** *Nature* 1965, **205**(976):1112-1113.
105. Frisvad JC, Thrane U, Samson RA, Pitt JI: **Important mycotoxins and the fungi which produce them Advances in Food Mycology.** In. Edited by Hocking AD, Pitt JI, Samson RA, Thrane U, vol. 571: Springer US; 2006: 3-31.
106. Wilson DM, Mubatanhema W, Jurjevic Z: **Biology Aand Ecology of Mycotoxigenic Aspergillus Species as Related to Economicand Health Concerns Mycotoxins and Food Safety.** In. Edited by DeVries JW, Trucksess MW, Jackson LS, vol. 504: Springer US; 2002: 3-17.
107. Romani S, Sacchetti G, Chaves Lopez C, Pinnavaia GG, Dalla Rosa M: **Screening on the Occurrence of Ochratoxin A in Green Coffee Beans of Different Origins and Types.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000, **48**(8):3616-3619.
108. Thirumala-Devi K, Mayo MA, Reddy G, Tangni EK, Larondelle Y, Reddy DV: **Occurrence of ochratoxin A in black pepper, coriander, ginger and turmeric in India.** *Food Addit Contam* 2001, **18**(9):830-835.
109. Amezcqueta S, Gonzalez-Penas E, Murillo M, Lopez de Cerain A: **Validation of a high-performance liquid chromatography analytical method for ochratoxin A quantification in cocoa beans.** *Food Addit Contam* 2004, **21**(11):1096-1106.

110. Greenhill AR, Shipton WA, Blaney BJ, Warner JM: **Fungal colonization of sago starch in Papua New Guinea.** *International Journal of Food Microbiology* 2007, **119**(3):284-290.
111. Senyuva HZ, Gilbert J, Ozcan S, Ulken U: **Survey for Co-occurrence of Ochratoxin A and Aflatoxin B1 in Dried Figs in Turkey by Using a Single Laboratory-Validated Alkaline Extraction Method for Ochratoxin A.** *Journal of Food Protection* 2005, **68**(7):1512-1515.
112. Domijan AM, Peraica M, Žlender V, Cvjetković B, Jurjević Ž, Topolovec-Pintarić S, Ivić D: **Seed-borne fungi and ochratoxin A contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Republic of Croatia.** *Food and Chemical Toxicology* 2005, **43**(3):427-432.
113. González L, Juan C, Soriano JM, Moltó JC, Mañes J: **Occurrence and daily intake of ochratoxin A of organic and non-organic rice and rice products.** *International Journal of Food Microbiology* 2006, **107**(2):223-227.
114. Boudra H, Le Bars P, Le Bars J: **Thermostability of Ochratoxin A in wheat under two moisture conditions.** *Appl Environ Microbiol* 1995, **61**(3):1156-1158.
115. Tsubouchi H, Yamamoto K, Hisada K, Sakabe Y, Udagawa S-i: **Effect of roasting on ochratoxin A level in green coffee beans inoculated with *Aspergillus ochraceus*.** *Mycopathologia* 1987, **97**(2):111-115.
116. Studer-Rohr I, Dietrich DR, Schlatter J, Schlatter C: **The occurrence of ochratoxin A in coffee.** *Food and Chemical Toxicology* 1995, **33**(5):341-355.
117. Micco C, Grossi M, Miraglia M, Brera C: **A study of the contamination by ochratoxin A of green and roasted coffee beans.** *Food Addit Contam* 1989, **6**(3):333-339.
118. Blanc M, Pittet A, Muñoz-Box R, Viani R: **Behavior of Ochratoxin A during Green Coffee Roasting and Soluble Coffee Manufacture.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998, **46**(2):673-675.
119. Ferraz MBM, Farah A, Iamanaka BT, Perrone D, Copetti MV, Marques VX, Vitali AA, Taniwaki MH: **Kinetics of ochratoxin A destruction during coffee roasting.** *Food Control* 2010, **21**(6):872-877.
120. Castellanos-Onorio O, Gonzalez-Rios O, Guyot B, Fontana TA, Guiraud JP, Schorr-Galindo S, Durand N, Suárez-Quiroz M: **Effect of two different roasting techniques on the Ochratoxin A (OTA) reduction in coffee beans (*Coffea arabica*).** *Food Control* 2011, **22**(8):1184-1188.
121. Suárez-Quiroz M, González-Rios O, Barel M, Guyot B, Schorr-Galindo S, Guiraud J-P: **Study of ochratoxin A-producing strains in coffee processing.** *International Journal of Food Science & Technology* 2004, **39**(5):501-507.
122. IARC: **Some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins.** In: *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to Humans*. vol. 56. Lyon, France: World Health Organization; 1993.
123. Krogh P: **Role of ochratoxin in disease causation.** *Food and Chemical Toxicology* 1992, **30**(3):213-224.
124. Ringot D, Lerzy B, Chaplain K, Bonhoure J-P, Auclair E, Larondelle Y: **In vitro biosorption of ochratoxin A on the yeast industry by-products: Comparison of isotherm models.** *Bioresource Technology* 2007, **98**(9):1812-1821.
125. Pfohl-Leszkowicz A, Manderville RA: **Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans.** *Molecular Nutrition & Food Research* 2007, **51**(1):61-99.
126. Petzinger E, Weidenbach A: **Mycotoxins in the food chain: the role of ochratoxins.** *Livestock Production Science* 2002, **76**(3):245-250.

127. **REGULAMENTO (CE) Nº 1881/2006**
[<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:PT:PDF>]
128. **Mycotoxin survey 2009: moulds remain a problem for the whole farm-to-fork chain**
[<http://www.allaboutfeed.net/article-database/mycotoxin-survey-2009-moulds-remain-a-problem-for-the-whole-farm-to-fork-chain-id1500-page-2.htm>]
129. Krska R, Schubert-Ullrich P, Molinelli A, Sulyok M, MacDonald S, Crews C: **Mycotoxin analysis: An update.** *Food Additives & Contaminants: Part A* 2008, **25**(2):152-163.
130. **REGULAMENTO (UE) Nº 105/2010 DA COMISSÃO**
[<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:035:0007:0008:PT:PDF>]
131. **Reducing ochratoxin A in coffee** [<http://www.coffee-ota.org/faq.asp>]
132. Zambolim L: **Rastreabilidade para a Cadeia Produtiva do Café.** Viçosa: UFV; 2007.
133. **Sustainability initiatives** [<http://www.ico.org/sustaininit.asp>]
134. Laura T R: **Mainstreaming Fair Trade Coffee: From Partnership to Traceability.** *World Development* 2009, **37**(6):1083-1093.
135. **Cadeia de Custódia UTZ CERTIFIED** [http://www.utzcertified-trainingcenter.com/home/images/documentos/coffeeGroupMultigroup/pt_utz_chain_of_custody_for_coffee_v4.0_2011.pdf]
136. Dórea JG, da Costa THM: **Is coffee a functional food?** *British Journal of Nutrition* 2005, **93**:773-782.
137. Vincent HK, Taylor AG: **Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans.** *Int J Obes (Lond)* 2006, **30**(3):400-418.
138. Vignoli JA, Bassoli DG, Benassi MT: **Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material.** *Food Chemistry* 2011, **124**(3):863-868.
139. Moreira DP, Monteiro MC, Ribeiro-Alves M, Donangelo CM, Trugo LC: **Contribution of chlorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages.** *J Agric Food Chem* 2005, **53**(5):1399-1402.
140. Hečimović I, Belščak-Cvitanović A, Horžić D, Komes D: **Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting.** *Food Chemistry* 2011, **129**(3):991-1000.
141. Heckman MA, Weil J, Gonzalez de Mejia E: **Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters.** *J Food Sci* 2010, **75**(3):R77-87.
142. Glade MJ: **Caffeine—Not just a stimulant.** *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)* 2010, **26**(10):932-938.
143. Daly JW: **Caffeine analogs: biomedical impact.** *Cell Mol Life Sci* 2007, **64**(16):2153-2169.
144. Hirakawa N, Okauchi R, Miura Y, Yagasaki K: **Anti-invasive activity of niacin and trigonelline against cancer cells.** *Biosci Biotechnol Biochem* 2005, **69**(3):653-658.
145. Tohda C, Kuboyama T, Komatsu K: **Search for natural products related to regeneration of the neuronal network.** *Neurosignals* 2005, **14**(1-2):34-45.

146. Daglia M, Tarsi R, Papetti A, Grisoli P, Dacarro C, Pruzzo C, Gazzani G: **Antiadhesive effect of green and roasted coffee on *Streptococcus mutans*' adhesive properties on saliva-coated hydroxyapatite beads.** *J Agric Food Chem* 2002, **50**(5):1225-1229.
147. Allred KF, Yackley KM, Vanamala J, Allred CD: **Trigonelline Is a Novel Phytoestrogen in Coffee Beans.** *The Journal of Nutrition* 2009, **139**(10):1833-1838.
148. Shearer J, Farah A, de Paulis T, Bracy DP, Pencek RR, Graham TE: **Quinides of roasted coffee enhance insulin action in conscious rats.** *Journal of Nutrition* 2003, **133**.
149. de Paulis T, Commers P, Farah A, Zhao J, McDonald MP, Galici R, Martin PR: **4-Caffeoyl-1,5-quinide in roasted coffee inhibits [3H]naloxone binding and reverses anti-nociceptive effects of morphine in mice.** *Psychopharmacology* 2004, **176**(2):146-153.
150. Alvarez AMR, Rodríguez MLG: **Lipids in pharmaceutical and cosmetic preparations;** 2000.
151. Heyden S: **Polyunsaturated and Monounsaturated Fatty Acids in the Diet to Prevent Coronary Heart Disease via Cholesterol Reduction.** *Annals of Nutrition and Metabolism* 1994, **38**(3):117-122.
152. Lidon F, Silvestre MM: **Industrias Alimentares. Aditivos e Tecnologia.** Lisboa; 2007.
153. Alves RC, Casal S, Oliveira MBPP: **Tocopherols in coffee brews: Influence of coffee species, roast degree and brewing procedure.** *Journal of Food Composition and Analysis* 2010, **23**(8):802-808.
154. Martins ACCL, Gloria MBA: **Changes on the levels of serotonin precursors – tryptophan and 5-hydroxytryptophan – during roasting of Arabica and Robusta coffee.** *Food Chemistry* 2010, **118**(3):529-533.
155. Daglia M, Papetti A, Grisoli P, Aceti C, Spini V, Dacarro C, Gazzani G: **Isolation, identification, and quantification of roasted coffee antibacterial compounds.** *J Agric Food Chem* 2007, **55**(25):10208-10213.
156. Rufian-Henares JA, de la Cueva SP: **Antimicrobial activity of coffee melanoidins-a study of their metal-chelating properties.** *J Agric Food Chem* 2009, **57**(2):432-438.
157. Reichardt N, Gniechwitz D, Steinhart H, Bunzel M, Blaut M: **Characterization of high molecular weight coffee fractions and their fermentation by human intestinal microbiota.** *Molecular Nutrition & Food Research* 2009, **53**(2):287-299.
158. Almeida AA, Farah A, Silva DA, Nunan EA, Gloria MB: **Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria.** *J Agric Food Chem* 2006, **54**(23):8738-8743.
159. Madhava Naidu M, Sulochanamma G, Sampathu SR, Srinivas P: **Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee.** *Food Chemistry* 2008, **107**(1):377-384.
160. Shimoda H, Seki E, Aitani M: **Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice.** *BMC Complement Altern Med* 2006, **6**:9.
161. Watanabe T, Arai Y, Mitsui Y, Kusaura T, Okawa W, Kajihara Y, Saito I: **The blood pressure-lowering effect and safety of chlorogenic acid from green coffee bean extract in essential hypertension.** *Clin Exp Hypertens* 2006, **28**(5):439-449.
162. Singh Arora D, Jeet Kaur G, Kaur H: **Antibacterial Activity of Tea and Coffee: Their Extracts and Preparations.** *International Journal of Food Properties* 2009, **12**(2):286-294.
163. Kozuma K, Tsuchiya S, Kohori J, Hase T, Tokimitsu I: **Antihypertensive Effect of Green Coffee Bean Extract on Mildly Hypertensive Subjects.** *Hypertens Res* 2005, **28**(9):711-718.

164. Borrelli RC, Esposito F, Napolitano A, Ritieni A, Fogliano V: **Characterization of a New Potential Functional Ingredient: Coffee Silverskin**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004, **52**(5):1338-1343.
165. Correia MNG: **A pele de prata do café. Notas sobre o seu emprego como sucedâneo do tabaco**. In: *Alimentação*. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia; 1982: 31.
166. Murthy P, Naidu M: **Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products**. *Food and Bioprocess Technology* 2010:1-7.
167. Saura-Calixto F: **Antioxidant Dietary Fiber Product: A New Concept and a Potential Food Ingredient**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998, **46**(10):4303-4306.
168. Furusawa M, Narita Y, Iwai K, Fukunaga T, Nakagiri O: **Inhibitory effect of a hot water extract of coffee "silverskin" on hyaluronidase**. *Biosci Biotechnol Biochem* 2011, **75**(6):1205-1207.
169. Miller KB, Stuart DA, Smith NL, Lee CY, McHale NL, Flanagan JA, Ou B, Hurst WJ: **Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United States**. *J Agric Food Chem* 2006, **54**(11):4062-4068.
170. Miller KB, Hurst WJ, Flannigan N, Ou B, Lee CY, Smith N, Stuart DA: **Survey of Commercially Available Chocolate- and Cocoa-Containing Products in the United States. 2. Comparison of Flavan-3-ol Content with Nonfat Cocoa Solids, Total Polyphenols, and Percent Cacao**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009, **57**(19):9169-9180.
171. Onakpoya I, Terry R, Ernst E: **The Use of Green Coffee Extract as a Weight Loss Supplement: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Clinical Trials**. *Gastroenterology Research and Practice* 2011, **2011**:6.
172. Kempf K, Herder C, Erlund I, Kolb H, Martin S, Carstensen M, Koenig W, Sundvall J, Bidel S, Kuha S *et al*: **Effects of coffee consumption on subclinical inflammation and other risk factors for type 2 diabetes: a clinical trial**. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2010, **91**(4):950-957.
173. Misik M, Hoelzl C, Wagner KH, Cavin C, Moser B, Kundi M, Simic T, Elbling L, Kager N, Ferk F *et al*: **Impact of paper filtered coffee on oxidative DNA-damage: results of a clinical trial**. *Mutat Res* 2010, **692**(1-2):42-48.
174. Kotani K, Sakane N, Yamada T, Taniguchi N: **Association between coffee consumption and the estimated glomerular filtration rate in the general Japanese population: preliminary data regarding C-reactive protein concentrations**. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2010, **48**(12):1773-1776.
175. van Dijk AE, Olthof MR, Meeuse JC, Seebus E, Heine RJ, van Dam RM: **Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance**. *Diabetes Care* 2009, **32**(6):1023-1025.
176. Jaquet M, Rochat I, Moulin J, Cavin C, Bibiloni R: **Impact of coffee consumption on the gut microbiota: A human volunteer study**. *International Journal of Food Microbiology* 2009, **130**(2):117-121.
177. Dellalibera O, Lemaire B, Lafay S: **Le Svetol®, un extrait de café vert décaféiné, induit une perte de poids et augmente le ratio masse maigre sur masse grasse chez des volontaires en surcharge pondérale**. *Phytothérapie* 2006, **4**(4):194-197.
178. Thom E: **The Effect of Chlorogenic Acid Enriched Coffee on Glucose Absorption in Healthy Volunteers and Its Effect on Body Mass When Used Long-term in Overweight and Obese People**. *The Journal of International Medical Research* 2007, **35**(6):900-908.

179. Monteiro M, Farah A, Perrone D, Trugo LC, Donangelo C: **Chlorogenic Acid Compounds from Coffee Are Differentially Absorbed and Metabolized in Humans.** *The Journal of Nutrition* 2007, **137**(10):2196-2201.
180. Natella F, Nardini M, Giannetti I, Dattilo C, Scaccini C: **Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans.** *J Agric Food Chem* 2002, **50**(21):6211-6216.
181. Natella F, Nardini M, Belevi F, Scaccini C: **Coffee drinking induces incorporation of phenolic acids into LDL and increases the resistance of LDL to ex vivo oxidation in humans.** *The American Journal of Clinical Nutrition* 2007, **86**(3):604-609.
182. Mursu J, Voutilainen S, Nurmi T, Alfthan G, Virtanen JK, Rissanen TH, Happonen P, Nyyssönen K, Kaikkonen J, Salonen R *et al*: **The effects of coffee consumption on lipid peroxidation and plasma total homocysteine concentrations: a clinical trial.** *Free Radical Biology and Medicine* 2005, **38**(4):527-534.
183. Yukawa GS, Mune M, Otani H, Tone Y, Liang XM, Iwahashi H, Sakamoto W: **Effects of Coffee Consumption on Oxidative Susceptibility of Low-Density Lipoproteins and Serum Lipid Levels in Humans.** *Biochemistry (Moscow)* 2004, **69**(1):70-74.
184. Esposito F, Morisco F, Verde V, Ritieni A, Alezio A, Caporaso N, Fogliano V: **Moderate coffee consumption increases plasma glutathione but not homocysteine in healthy subjects.** *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2003, **17**(4):595-601.
185. Olthof MR, Hollman PCH, Katan MB: **Chlorogenic Acid and Caffeic Acid Are Absorbed in Humans.** *The Journal of Nutrition* 2001, **131**(1):66-71.
186. Sies H, Schewe T, Heiss C, Kelm M: **Cocoa polyphenols and inflammatory mediators.** *The American Journal of Clinical Nutrition* 2005, **81**(1):304S-312S.
187. Rios LY, Bennett RN, Lazarus SA, Révész C, Scalbert A, Williamson G: **Cocoa procyanidins are stable during gastric transit in humans.** *The American Journal of Clinical Nutrition* 2002, **76**(5):1106-1110.
188. Rein D, Paglieroni TG, Wun T, Pearson DA, Schmitz HH, Gosselin R, Keen CL: **Cocoa inhibits platelet activation and function.** *The American Journal of Clinical Nutrition* 2000, **72**(1):30-35.
189. **Regulamento (CE) nº1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho** [http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/site/pt/oj/2006/l_404/l_40420061230pt00090025.pdf]
190. de Jong N, Klungel OH, Verhagen H, Wolfs MC, Ocke MC, Leufkens HG: **Functional foods: the case for closer evaluation.** *BMJ* 2007, **334**(7602):1037-1039.
191. Mattioli AV, Farinetti A, Miloro C, Pedrazzi P, Mattioli G: **Influence of coffee and caffeine consumption on atrial fibrillation in hypertensive patients.** *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2011, **21**(6):412-417.
192. Orecchio S, Ciotti VP, Culotta L: **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC-MS, profile, levels and sources.** *Food and Chemical Toxicology* 2009, **47**(4):819-826.
193. Bagdonaite K, Derler K, Murkovic M: **Determination of acrylamide during roasting of coffee.** *J Agric Food Chem* 2008, **56**(15):6081-6086.
194. Lantz I, Ternite R, Wilkens J, Hoenicke K, Guenther H, van der Stegen GH: **Studies on acrylamide levels in roasting, storage and brewing of coffee.** *Mol Nutr Food Res* 2006, **50**(11):1039-1046.

195. Seal CJ, Mul Ad, Eisenbrand G, Haverkort AJ, Franke K, Lalljie SPD, Mykkanen H, Reimerdes E, Scholz G, Somoza V *et al*: **Risk-Benefit Considerations of Mitigation Measures on Acrylamide Content of Foods - A Case Study on Potatoes, Cereals and Coffee.** *British Journal of Nutrition* 2008, **99**(Supl.2):S1-S46.
196. Altaki MS, Santos FJ, Galceran MT: **Occurrence of furan in coffee from Spanish market: Contribution of brewing and roasting.** *Food Chemistry* 2011, **126**(4):1527-1532.
197. Lim J, Fujimaru T: **Evaluation of the Labeled Hedonic Scale under different experimental conditions.** *Food Quality and Preference* 2010, **21**(5):521-530.
198. Peryam DR, Pilgrim PJ: **Hedonic Scale method of measuring food preferences.** *Food Technology* 1957, **11**.
199. ISO 4121: **Sensory analysis - Guidelines for the use of quantitative response scales.** Edited by ISO, 2 edn; 2003: 9.
200. ISO 8589: **Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms.** Edited by ISO; 1988: 9.
201. NP 1795: **Café verde em grão. Determinação do teor de água.** Edited by IPQ; 1989.
202. ISO 10470: **Green coffee. Defect reference chart.** Edited by ISO; 2004: 15.
203. ISO 4149: **Green coffee - Olfactory and visual examination and determination of foreign matter and defects.** Edited by ISO, 2 edn; 2005: 5.
204. **Decisões da Junta Executiva (266) EB-3943/08** [<http://www.ico.org/documents/eb3943p.pdf>]
205. ICO: **Resolução número 420 do Conselho Internacional do Café de 21 de Maio de 2004.** Edited by Organization IC; 2004: 4.
206. NP 1636: **Café verde. Análise granulométrica. Crivagem manual.** Edited by IPQ. Lisboa: Direcção Geral da Qualidade; 1981: 4.
207. ISO 4150: **Green coffee - Size analysis - Manual sieving.** Edited by ISO, 2 ed; 1991: 6.
208. Esteves; AB, Oliveira. JFS: **Contribuição para o estudo das características dos cafés de Angola.** In: *Junta de Investigação dos Cafés do Ultramar-estudos ensaios e documentos* vol. 126, 121 edn; 1970.
209. Bicho NC: **Qualidade e Segurança Alimentar no café verde e aclimação do género Coffea em condições de stress ambiental.** Monte da Caparica: Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa; 2004.
210. NP 1794: **Café. Café verde. Determinação da perda de massa por secagem.** Edited by IPQ; 1988: 4.
211. NP 2286: **Extratos secos de café e de sucedâneos: Determinação da massa volúmica aparente por compactação.** Edited by IPQ; 1991: 5.
212. Alves RC, Almeida IMC, Casal S, Oliveira MBPP: **Method development and validation for isoflavones quantification in coffee.** *Food Chemistry* 2010, **122**(3):914-919.
213. Antonio AG, Moraes RS, Perrone D, Maia LC, Santos KRN, Iório NLP, Farah A: **Species, roasting degree and decaffeination influence the antibacterial activity of coffee against Streptococcus mutans.** *Food Chemistry* 2010, **118**(3):782-788.
214. NP 1458: **Peneiros para ensaio. Redes metálicas e chapas metálicas perfuradas. Aberturas nominais.** Edited by IPQ; 1977.

215. NP 3659: **Café torrado. Determinação da perda de massa por secagem.** Edited by IPQ; 1991.
216. Reddick JF, Hesketh AH, Morar SH, Bradshaw DJ: **An evaluation of factors affecting the robustness of colour measurement and its potential to predict the grade of flotation concentrate.** *Minerals Engineering* 2009, **22**(1):64-69.
217. 色について [<http://biz.websuccess.jp/cud/colorsense/>]
218. Chervin CF, P.; Birrell, F.: **Calibration tile slightly influences assessment of color changes in pears from green to yellow using the L, a, b space.** *HortScience : a publication of the American Society for Horticultural Science* 1996, **31**(3):471.
219. Bicho: **Estudo de alguns parâmetros cromáticos, sensoriais, tecnológicos, físicos e químicos do grão de café.** Lisboa: Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa; 2008.
220. McGuire RG: **Reporting of objective color measurements.** *HortScience : a publication of the American Society for Horticultural Science* 1992, **27**:1254-1255.
221. International AOAC: **Coffee and Tea**, vol. 2: AOAC; 1996.
222. Lingle TR: **The coffee brewing handbook : a systematic guide to coffee preparation.** Long Beach, Calif: Specialty Coffee Association of America; 1996.
223. NP 2029: **Alimentos para animais: determinação do teor de celulose bruta.** Edited by IPQ; 1994.
224. Metcalfe LD, Schemitz AA, Pelka JR: **Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis.** *Anal Chem* 1966, **38**.
225. Campos PS, Quartin Vn, Ramalho Jc, Nunes MA: **Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. plants.** *Journal of Plant Physiology* 2003, **160**(3):283-292.
226. Mazliak P: **Plant membrane lipids: changes and alterations during aging and senescence.** In: *Postharvest physiology and crop preservation*. Edited by Lieberman M. New York: Plenum Press; 1983: 123-140.
227. Singleton VL, Rossi JA: **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagent.** *American Journal of Enology and Viticulture* 1956, **16**.
228. Giao MS, Gonzalez-Sanjose ML, Rivero-Perez MD, Pereira CI, Pintado ME, Malcata FX: **Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features.** *J Sci Food Agric* 2007, **87**(14):2638-2647.
229. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C: **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** *LWT - Food Science and Technology* 1995, **28**(1):25-30.
230. Kim D-O, Lee CY: **Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free Radical and its Structural Relationship.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2004, **44**(4):253-273.
231. St. Angelo AJ, Vercellotti J, Jacks T, Legendre M: **Lipid oxidation in foods.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1996, **36**(3):175-224.
232. Cakmak I, Horst WJ: **Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (Glycine max).** *Physiologia Plantarum* 1991, **83**.
233. ISO 10095: **Coffee-Determination of caffeine content - Method using high-performance liquid chromatography.** In: International Organization for Standardization; 1992: 6.

234. AOAC: **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists** Gaithersburg MD, USA; 2000.
235. Trugo LC, Macrae R: **A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC.** *Food Chemistry* 1984, **15**(3):219-227.
236. Bicho N, Leitão A, Ramalho J, Lidon F: **Identification of chemical clusters discriminators of the roast degree in Arabica and Robusta coffee beans.** *European Food Research and Technology* 2011, **233**(2):303-311.
237. De Maria CAB, Trugo LC, Corá G: **Application of HPSE Chromatography with a Refractive Index Detector to Green Coffee Analysis.** *Química Nova* 1996, **19**(4).
238. Chinnici F, Spinabelli U, Riponi C, Amati A: **Optimization of the determination of organic acids and sugars in fruit juices by ion-exclusion liquid chromatography.** *Journal of Food Composition and Analysis* 2005, **18**(2-3):121-130.
239. Rodriguez-Campos J, Escalona-Buendía HB, Orozco-Avila I, Lugo-Cervantes E, Jaramillo-Flores ME: **Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis.** *Food Research International* 2011, **44**(1):250-258.
240. Suzuki A, Kagawa D, Ochiai R, Tokimitsu I, Saito I: **Green coffee bean extract and its metabolites have a hypotensive effect in spontaneously hypertensive rats.** *Hypertension Research* 2002, **25**:99-107.
241. Tetsuya H: **Micro- and nanobiotechnology for biosensing cellular responses.** *Advanced Drug Delivery Reviews* 2003, **55**(3):393-401.
242. Deliza R, Marques RL, Santos JG, Farah A: **A influência dos defeitos dos grãos de café na preferência da bebida.** In: *Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*. Edited by Café E. Brasília; 2007.
243. Mendonça JCF, Franca AS, Oliveira LS: **Physical characterization of non-defective and defective Arabica and Robusta coffees before and after roasting.** *Journal of Food Engineering* 2009, **92**(4):474-479.
244. Pimenta CJ: **Qualidade de café**, 3 ed. Lavras; 2003.
245. Bosselmann AS, Dons K, Oberthur T, Olsen CS, Ræbild A, Usma H: **The influence of shade trees on coffee quality in small holder coffee agroforestry systems in Southern Colombia.** *Agriculture, Ecosystems & Environment* 2009, **129**(1-3):253-260.
246. ABIC: **Norma de Qualidade Recomendável e Boas Práticas de Fabricação de Cafés Torrados em Grão e Cafés Torrados e Moídos.** Edited by ABIC; 2010: 20.
247. Ferreira G: **Avaliação da qualidade física, química, sensorial e da composição fungica de grãos de cafés beneficiados.** Vitória da Conquista - BA; 2010.
248. Mendonça LMVL, Pereira RGFA, Borém FM, Almeida SRd, Garcia AWR, Mendonça JMAd: **Classificação por peneira de grãos de *Coffea arabica* L. avaliada por meio de análise multivariada.** Brasília: SPCB Londrina, PR; 2005.
249. Ximenes M: **A Tecnologia Pós-Colheita e Qualidade Física e Organoléptica do Café Arábica de Timor (dissertação de mestrado).** In. Lisboa; 2010.
250. Coste R: **Coffee: the plant and the product.** London; 1992.

251. Fazuoli LC: **Genética e Melhoramento do cafeeiro**. In: *Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade*. Edited by RENA ABM, E.; ROCHA, M.; YAMADA, T., 113 edn. Piracicaba: POTAFOS; 1986.
252. MAPA: **Instrução Normativa nº 8 de 11 de Junho de 2003 Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru**. Edited by MAPA. Brasil; 2003: 11.
253. Matiello JB: **O café; do cultivo ao consumo**. São Paulo: Globo; 1991.
254. Bicho N: **Estudo de alguns parâmetros cromáticos, sensoriais, tecnológicos, físicos e químicos do grão de café (dissertação de doutoramento)**. Monte da Caparica; 2008.
255. Liu Y, Kitts DD: **Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews**. *Food Research International* 2011, **44**(8):2418-2424.
256. Jinap S, Dimick PS, Hollender R: **Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries**. *Food Control* 1995, **6**(2):105-110.
257. García-Alamilla P, Salgado-Cervantes MA, Barel M, Berthomieu G, Rodríguez-Jimenes GC, García-Alvarado MA: **Moisture, acidity and temperature evolution during cacao drying**. *Journal of Food Engineering* 2007, **79**(4):1159-1165.
258. Yousif AK, Alghzawi HM: **Processing and characterization of carob powder**. *Food Chemistry* 2000, **69**(3):283-287.
259. Aguiar ATdE, Fazuoli LC, Salva TdJG, Favarin JL: **Diversidade química de cafeeiros na espécie *Coffea canephora***. *Bragantia* 2005, **64**:577-582.
260. Mendonça LMVL, Pereira RGFA, Mendes ANG: **Parâmetro bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.)**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2005, **25**:239-243.
261. Illy A, Vianni R: **Espresso coffee: the chemistry of quality**. San Diego: Academic; 1995.
262. Ministério da Agricultura Pesca e Alimentação: **Decreto-Lei n.º 53/89 de 22 de Fevereiro**. In: *Diário da República*; 1989: 5.
263. Napolitano A, Fogliano V, Tafuri A, Ritieni A: **Natural Occurrence of Ochratoxin A and Antioxidant Activities of Green and Roasted Coffees and Corresponding Byproducts**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, **55**(25):10499-10504.
264. **Insoluble Fiber: Foods High in Insoluble Fiber Content** [<http://www.dietaryfiberfood.com/dietary-fiber/insoluble-fiber-sources.php>]
265. Baba S, Osakabe N, Kato Y, Natsume M, Yasuda A, Kido T, Fukuda K, Muto Y, Kondo K: **Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans**. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2007, **85**(3):709-717.
266. Lecumberri E, Mateos R, Izquierdo-Pulido M, Rupérez P, Goya L, Bravo L: **Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.)**. *Food Chemistry* 2007, **104**(3):948-954.
267. George SE, Ramalakshmi K, Mohan Rao LJ: **A Perception on Health Benefits of Coffee**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2008, **48**(5):464-486.
268. Mazzafera P, Soave D, Zullo M, Guerreiro Filho O: **Oil content of green beans from some coffee species**. *Bragantia* 1998, **57**.

269. IARC: **Coffee, tea, mate, methylxanthines and methylglyoxal** Lyon, France; 1991.
270. Urgert R, Essed N, van der Weg G, Kosmeijer-Schuil T, Katan M: **Separate effects of the coffee diterpenes cafestol and kahweol on serum lipids and liver aminotransferases.** *The American Journal of Clinical Nutrition* 1997, **65**(2):519-524.
271. Ricketts M-L, Boekschoten MV, Kreeft AJ, Hooiveld GJEJ, Moen CJA, Müller M, Frants RR, Kasanmoentalib S, Post SM, Princen HMG *et al.*: **The Cholesterol-Raising Factor from Coffee Beans, Cafestol, as an Agonist Ligand for the Farnesoid and Pregnane X Receptors.** *Molecular Endocrinology* 2007, **21**(7):1603-1616.
272. Urgert R, Katan MB: **The cholesterol-raising factor from coffee beans.** *Annu Rev Nutr* 1997, **17**:305-324.
273. van Cruchten STJ, de Haan LHJ, Mulder PPJ, Kunne C, Boekschoten MV, Katan MB, Aarts JMMJG, Witkamp RF: **The role of epoxidation and electrophile-responsive element-regulated gene transcription in the potentially beneficial and harmful effects of the coffee components cafestol and kahweol.** *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2010, **21**(8):757-763.
274. ElKhorri S, Paré JRJ, Bélanger JMR, Pérez E: **The microwave-assisted process (MAPTM1): Extraction and determination of fat from cocoa powder and cocoa nibs.** *Journal of Food Engineering* 2007, **79**(3):1110-1114.
275. Veselá A, Barros AS, Synytsya A, Delgadillo I, Čopíková J, Coimbra MA: **Infrared spectroscopy and outer product analysis for quantification of fat, nitrogen, and moisture of cocoa powder.** *Analytica Chimica Acta* 2007, **601**(1):77-86.
276. Vu TO, Galet L, Fages J, Oulahna D: **Improving the dispersion kinetics of a cocoa powder by size enlargement.** *Powder Technology* 2003, **130**(1-3):400-406.
277. Martín MaJ, Pablos F, González AG, Valdenebro MaS, León-Camacho M: **Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffee varieties differentiation.** *Talanta* 2001, **54**(2):291-297.
278. Mursu J, Voutilainen S, Nurmi T, Rissanen TH, Virtanen JK, Kaikkonen J, Nyssönen K, Salonen JT: **Dark Chocolate Consumption Increases HDL Cholesterol Concentration and Chocolate Fatty Acids May Inhibit Lipid Peroxidation in Healthy Humans.** *Free Radical Biology and Medicine* 2004, **37**(9):1351-1359.
279. Khan N, Monagas M, Andres-Lacueva C, Casas R, Urpí-Sardà M, Lamuela-Raventós RM, Estruch R: **Regular consumption of cocoa powder with milk increases HDL cholesterol and reduces oxidized LDL levels in subjects at high-risk of cardiovascular disease.** *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* (0).
280. Contini M, Baccelloni S, Frangipane MT, Merendino N, Massantini R: **Increasing espresso coffee brew antioxidant capacity using phenolic extract recovered from hazelnut skin waste.** *Journal of Functional Foods* (0).
281. Tabart J, Kevers C, Pincemail J, Defraigne J-O, Dommès J: **Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests.** *Food Chemistry* 2009, **113**(4):1226-1233.
282. Ramalakshmi K, Rao LJM, Takano-Ishikawa Y, Goto M: **Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems.** *Food Chemistry* 2009, **115**(1):79-85.
283. Brezová V, Šlebodová A, Staško A: **Coffee as a source of antioxidants: An EPR study.** *Food Chemistry* 2009, **114**(3):859-868.
284. Bonita JS, Mandarano M, Shuta D, Vinson J: **Coffee and cardiovascular disease: in vitro, cellular, animal, and human studies.** *Pharmacol Res* 2007, **55**(3):187-198.

285. dos Santos MD, Almeida MC, Lopes NP, de Souza G: **Evaluation of the Anti-inflammatory, Analgesic and Antipyretic Activities of the Natural Polyphenol Chlorogenic Acid.** *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2006, **29**(11):2236-2240.
286. Casal S, Oliveira MBPP, Alves MR, Ferreira MA: **Discriminate Analysis of Roasted Coffee Varieties for Trigonelline, Nicotinic Acid, and Caffeine Content.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000, **48**(8):3420-3424.
287. Risner CH: **Simultaneous determination of theobromine, (+)-catechin, caffeine, and (-)-epicatechin in standard reference material baking chocolate 2384, cocoa, cocoa beans, and cocoa butter.** *J Chromatogr Sci* 2008, **46**(10):892-899.
288. Maeztu L, Andueza S, Ibañez C, Paz de Peña M, Bello J, Cid C: **Multivariate Methods for Characterization and Classification of Espresso Coffees from Different Botanical Varieties and Types of Roast by Foam, Taste, and Mouthfeel.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001, **49**(10):4743-4747.
289. Casal S, Alves R, Eulália M, Oliveira B: **Teor médio em cafeína do café expresso consumido em Portugal (canal HORECA),** vol. 1; 2009.
290. Santini A, Ferracane R, Mikušová P, Eged Š, Šrobárová A, Meca G, Mañes J, Ritieni A: **Influence of different coffee drink preparations on ochratoxin A content and evaluation of the antioxidant activity and caffeine variations.** *Food Control* 2011, **22**(8):1240-1245.
291. Stennert A, Maier HG: **Trigonelline in coffee.** *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* 1996, **202**(1):45-47.
292. Perrone D, Donangelo CM, Farah A: **Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography-mass spectrometry.** *Food Chem* 2008, **110**(4):1030-1035.
293. Adrian J, Frangne R: **Synthesis and availability of niacin in roasted coffee.** *Adv Exp Med Biol* 1991, **289**:49-59.
294. Daglia M, Cuzzoni MT, Dacarro C: **Antibacterial activity of coffee: Relationship between biological activity and chemical markers.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1994, **42**(10):2273-2277.
295. Viani R, Horman I: **Thermal behavior of trigonelline.** *Journal of Food Science* 1974, **39**(6):1216-1217.
296. Belščak A, Komes D, Horžić D, Ganić KK, Karlović D: **Comparative study of commercially available cocoa products in terms of their bioactive composition.** *Food Research International* 2009, **42**(5-6):707-716.
297. Ky CL, Louarn J, Dussert S, Guyot B, Hamon S, Noirot M: **Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild Coffea arabica L. and C. canephora P. accessions.** *Food Chemistry* 2001, **75**(2):223-230.
298. Correia MNG, Leitao MCA, Clifford MN: **Caffeoyl-tyrosine and Angol II as characteristic markers for Angolan robusta coffees.** *Food Chemistry* 1995, **53**(3):309-313.
299. Farah A, de Paulis T, Trugo LC, Martin PR: **Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, **53**(5):1505-1513.
300. Fujioka K, Shibamoto T: **Chlorogenic acid and caffeine contents in various commercial brewed coffees.** *Food Chemistry* 2008, **106**(1):217-221.
301. Clifford MN, Kellard B, Ah-sing E: **Caffeoyltyrosine from green robusta coffee beans.** *Phytochemistry* 1989, **28**(7):1989-1990.

302. Gniechwitz D, Reichardt N, Blaut M, Steinhart H, Bunzel M: **Dietary fiber from coffee beverage: degradation by human fecal microbiota.** *J Agric Food Chem* 2007, **55**(17):6989-6996.
303. Rogers WJ, Michaux S, Bastin M, Bucheli P: **Changes to the content of sugars, sugar alcohols, myo-inositol, carboxylic acids and inorganic anions in developing grains from different varieties of Robusta (*Coffea canephora*) and Arabica (*C. arabica*) coffees.** *Plant Science* 1999, **149**(2):115-123.
304. L.C T: **COFFEE | Analysis of Coffee Products.** In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*. Edited by Editor-in-Chief: Benjamin C. Oxford: Academic Press; 2003: 1498-1506.
305. Kleinwächter M, Selmar D: **Influence of drying on the content of sugars in wet processed green Arabica coffees.** *Food Chemistry* 2010, **119**(2):500-504.
306. Knopp S, Bytof G, Selmar D: **Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans.** *European Food Research and Technology* 2006, **223**(2):195-201.
307. Salva TdJG, Martini G; Guerreiro O, Fazuoli LC ; Silvarolla, MB, Aguiar ATE **Concentração de carboidratos de baixo peso molecular em Coffea canephora.** In: *Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*. Edited by Londrina P. Brasília: Embrapa Café; 2005.
308. Mussatto SI, Teixeira JA: **Increase in the fructooligosaccharides yield and productivity by solid-state fermentation with *Aspergillus japonicus* using agro-industrial residues as support and nutrient source.** *Biochemical Engineering Journal* 2010, **53**(1):154-157.
309. Adeyeye EI, Akinyeye RO, Ogunlade I, Olaofe O, Boluwade JO: **Effect of farm and industrial processing on the amino acid profile of cocoa beans.** *Food Chemistry* 2010, **118**(2):357-363.
310. Lopes LMV: **Avaliação da qualidade de grão crus e torrados de cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.).** Lavras: UFLA; 2000.
311. Pinto NAVD, Pereira RGFA, Fernandes SM, Carvalho VD: **Açúcares e sólidos solúveis em bebidas e blends de cafés torrados tipo expresso.** In: *SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL*. Edited by Vitória. Rio de Janeiro: EMBRAPA; 2001: 101.
312. Bekedam EK, Roos E, Schols HA, Van Boekel MAJS, Smit G: **Low Molecular Weight Melanoidins in Coffee Brew.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008, **56**(11):4060-4067.
313. Rodrigues CI, Marta L, Maia R, Miranda M, Ribeirinho M, Máguas C: **Application of solid-phase extraction to brewed coffee caffeine and organic acid determination by UV/HPLC.** *Journal of Food Composition and Analysis* 2007, **20**(5):440-448.
314. Scudamore KA, Banks J, MacDonald SJ: **Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grains during milling and bread production.** *Food Addit Contam* 2003, **20**(12):1153-1163.